MYKOSEN

Organ der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft als Sektion der International Society for Human and Animal Mycology

Schriftleiter: Prof. Dr. med. H. Grimmer, Berlin

Band 4
Heft 2
Berlin
15. Juni
1961

Unter Mitarbeit von:

AJELLO, Chamblee · BLAICH, Wuppertal · BÖHM, München · CARRIÉ, Dortmund · CASTELLANI, Lissabon · CONANT, Durham · FEGELER, Münster · GANS, Frankfurt · GOTTRON, Tübingen, GONZALES OCHOA, Mexiko · GÖTZ, München · GRÜNEBERG, Halle · HÄMEL, Heidelberg HARTUNG, Hannover · HEYMER, Bonn · ITO, Osaka · JANKE, Wien · D. JANKE, Fulda · JUNG, Neubrandenburg · KADEN, Berlin · KALKOFF, Marburg · KIMMIG, Hamburg · KÖNIGSBAUER, Knittelfeld · LINSER, Berlin · MEMMESHEIMER, Essen · MÜLHENS, Hamburg · POLEMANN, Köln REISS, New York · RIETH, Hamburg Wandsbek · SCHUERMANN, Bonn · SCHULZE, Freiburg SEELIGER, Bonn · SZATHMARY, Karcag · TELLER, Berlin · VANBREUSEGHEM, Antwerpen VONKENNEL, Köln

Untersuchungen über die stoffwechselphysiologische Wirkung verschiedener Kohlenhydrat- und Stickstoffquellen auf Microsporon canis

Von H. ZIEGLER

Aus der Hautklinik der Charité der Humboldt-Universität zu Berlin
(Dir.: Prof. Dr. Dr. h. c. Karl Linser)

Dermatomyzeten lassen sich im allgemeinen auf den bekannten „klassischen" Nährböden ohne große Schwierigkeiten kultivieren. Diese Substrate enthalten offensichtlich alle für ein gutes Gedeihen der Pilze erforderlichen Nähr- und Wirkstoffe, die jedoch nicht in jedem Falle im einzelnen quantitativ definiert sind. Für den Pilznachweis und die Identifizierung ist das auch nicht immer erforderlich. Wenn man jedoch den Stoffwechselmechanismus variierter Ernährungs- und Wirkstoff-Faktoren bestimmen will, soll ein eindeutig aufgebautes, vollwertiges Substrat vorliegen, dessen Komponenten in jeder Versuchsphase quantitativ bestimmt werden können.

Deshalb haben wir erneut die Frage der möglichen Verwertung einiger Kohlenhydrat- und Stickstoffquellen durch *Microsporon canis* aufgegriffen. Dabei strebten wir an, möglichst mehrere Kriterien für die Wirkung jener Substanzen auf den Pilz zu erfassen, da die Beurteilung z. B. der Myzeldurchmesser oder der Trockensubstanzproduktion allein nur einen beschränkten Aussagewert besitzt.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse weiter zurückliegender Arbeiten über die Stoffwechselphysiologie der Dermatomyzeten ist von Tate (1929) im Zusammenhang mit seinen ausführlichen Untersuchungen über die Enzyme einiger Hautpilze veröffentlicht worden. Weitere kritische Angaben über die Ernährungsphysiologie der Dermatomyzeten finden wir in Nickerson's „Biology of pathogenie fungi" (1947). Einen umfassenden Überblick vermittelt Swartz (1954) über die Physiologie der hautpathogenen Pilze.

Wir wollen mit der vorliegenden Arbeit folgende Fragen beantworten:

1. Auf welchen definierten Nährlösungen gedeiht *Microsporon canis* in einem für stoffwechselphysiologische Untersuchungen befriedigendem Ausmaß?
2. Welche Stickstoff- und Kohlenhydratquellen kann der Pilz für seinen Aufbau- und Erhaltungsstoffwechsel verwerten?
3. Welchen Einfluß üben diese Nährstoffe auf die Veränderung der pH-Werte der Nährlösungen durch *Microsporon canis*, die Stickstoff-Assimilation, die Resorption der Kohlenhydrate und den P-Haushalt aus?

Methodik

Für die Untersuchungen verwendeten wir einen im Januar 1960 isolierten und in der Mykothek der Klinik auf Bierwürzeagar kultivierten Stamm von *M. canis*. Alle Versuche wurden mit flüssigen Nährmedien (Nährlösungen, NL) in 200-ml-Erlenmeyerkolben (Kulturkolben, K) durchgeführt, die mit 50 ± 2 ml der jeweiligen NL beschickt worden waren. Die NL wurden 1 × 60 Minuten im Dampftopf auf 100 °C erhitzt, danach in die Kulturkolben umgefüllt und abschließend bei 1,2 atü 30 min sterilisiert. Impfstücke ließen sich mittels eines Korkbohrers (ca. 2 mm⌀) aus Myzeldecken ungefähr 4 Wochen alter Vermehrungskulturen (VK) gewinnen. Die Aufbewahrung der beimpften Kolben erfolgte in einem thermokonstanten Raum bei + 25 °C. Die Kolben wurden einmal täglich kurz geschüttelt. Jede Versuchsvariante bestand aus mindestens 10 — meistens 13 bis 17 — gleichartig beschickten Kolben. Die Nährlösungen hatten folgende Zusammensetzung:

Nährlösungen (NL)

NL-VK: NL für Vermehrungskulturen (VK)

Extr. malti pur. sicc. pulv. „Liebe"	30 g
Pepton Grünau f. d. Bakteriologie	3 g
Glycerin	3 g
NaCl	3 g
Aqua dest.	1000 g

Basis-NL:

$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	$\sim 0{,}2 \cdot 10^{-3}$ m
KH_2PO_4	$\sim 0{,}6 \cdot 10^{-3}$ m
K_2HPO_4	$\sim 0{,}3 \cdot 10^{-3}$ m
Aqua dest.	1.000,00 ml

NL-1:

Basis-NL +

Glukose	$\sim 5 \cdot 10^{-2}$ m
Asparagin	$\sim 6{,}5 \cdot 10^{-3}$ m

NL-1a:	wie NL-1,	+ B-Vitamie-Komplex-Lösung (BVK 1 : 10)	1,00 ml
NL-1b:	wie NL-1,	— Asparagin + Harnstoff	~ 6,5 · 10^{-3} m
NL-1c:	wie NL-1b	+ BVK 1 : 10	1,00 ml
NL-2:	wie NL-1,	-— Glukose + Saccharose	~ 2,5 · 10^{-2} m
NL-2a:	wie NL-2	+ BVK 1 : 10	1,00 ml
NL-2b:	wie NL-2,	— Asparagin + Harnstoff	~ 6,5 · 10^{-3} m
NL-2c:	wie NL-2b	+ BVK 1 : 10	1,00 ml
NL-3:	wie NL-1,	— Glukose + Maltose	~ 2,5 · 10^{-2} m
NL-3a:	wie NL-3	+ BVK 1 : 10	1,00 ml
NL-3b:	wie NL-3,	— Asparagin + Harnstoff	~ 6,5 · 10^{-3} m
NL-3c:	wie NL-3b	+ BVK 1 : 10	1,00 ml
NL-4:	wie NL-1,	— Glukose + Amylum solubile	10,00 g
NL-4a:	wie NL-4	+ BVK 1 : 10	1,00 ml
NL-4b:	wie NL-4,	— Asparagin + Harnstoff	~ 6,5 · 10^{-3} m
NL-4c:	wie NL-4b	+ BVK 1 : 10	1,00 ml

NL-5:

Glukose-Monohydrat	5 · 10^{-2} m
Asparagin	5 · 10^{-3} m
$MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$	1 · 10^{-3} m
KH_2PO_4	1 · 10^{-3} m
K_2HPO_4	5 · 10^{-4} m
NaCl	1 · 10^{-2} m
$CaCl_2 \cdot 6\,H_2O$	1 · 10^{-3} m
1-Histidin-HCl	5 · 10^{-5} m
de-Methionin	1 · 10^{-4} m
Tryptophan	1 · 10^{-4} m
BVK-1 : 10	1,0 ml
Mikronährstoff-Lösung	1,0 ml
Aqua dest.	

NL-5a:	wie NL-5,	— Asparagin + $(NH_4)_2SO_4$	5 · 10^{-3} m
NL-5b:	wie NL-5,	— Asparagin + Harnstoff	5 · 10^{-3} m
NL-6:	wie NL-5,	— Glukose + Saccharose	2,5 · 10^{-2} m
NL-6a:	wie NL-6,	— Asparagin + $(NH_4)_2SO_4$	5 · 10^{-3} m
NL-6b:	wie NL-6,	— Asparagin + Harnstoff	5 · 10^{-3} m
NL-7:	wie NL-5,	— Glukose + Maltose	2,5 · 10^{-2} m

NL-7a:	wie NL-7,	— Asparagin	
		+ $(NH_4)_2SO_4$	$5 \cdot 10^{-3}$ m
NL-7b:	wie NL-7,	— Asparagin	
		+ Harnstoff	$5 \cdot 10^{-3}$ m
NL-8:	wie NL-5,	— Glukose	
		+ Amylum solubile	10,40 g
NL-8a:	wie NL-8,	— Asparagin	
		+ $(NH_4)_2SO_4$	$5 \cdot 10^{-3}$ m
NL-8b:	wie NL-8,	— Asparagin	
		+ Harnstoff	$5 \cdot 10^{-3}$ m

Mikronährstoff-Lösung

$ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$	$2 \cdot 10^{-3}$ m
$FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$	$1 \cdot 10^{-3}$ m
$CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$	$2 \cdot 10^{-4}$ m
$MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$	$1 \cdot 10^{-3}$ m
B_2O_3	$4 \cdot 10^{-3}$ m
KJ	$2 \cdot 10^{-4}$ m
$NH_4Mo_7O_{24} \cdot 4\,H_2O$	$4 \cdot 10^{-5}$ m
Aqua bidest.	

Die Mikronährstoffe liegen in den NL in folgenden Endkonzentrationen (1 ml Mikronährstoff-Lösung zu 1 l NL) vor:

Zn	$2 \cdot 10^{-6}$ m
Fe	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$ m
Cu	$0{,}2 \cdot 10^{-6}$ m
Mn	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$ m
B	$4 \cdot 10^{-6}$ m
J	$0{,}2 \cdot 10^{-6}$ m
Mo	$0{,}4 \cdot 10^{-7}$ m

B-Vitamin-Komplex-Lösung

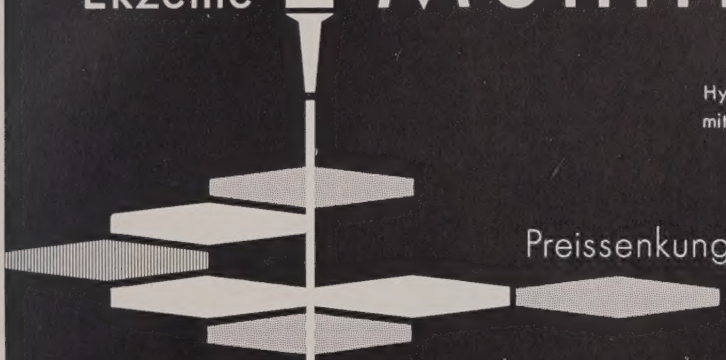
2 ml „BVK Roche" mit 18 ml aqua bidest. verdünnt. 1 ml BVK 1 : 10 zu 1 l NL. Es resultieren folgende Endkonzentrationen:

B_1 (Thiamin)	500 µg
B_2 (Laktoflavin)	200 µg
Nicotinsäureamid	2000 µg
B_6 (Pyridoxin)	200 µg
Pantothensäure	300 µg
B_{12}	0,5 µg
Biotin	25,0 µg

Die Versuchsdauer betrug — falls nicht anders angegeben — 28 Tage. Danach erfolgte die Bestimmung der Myzeltrockensubstanz (TS). Das gesammelte Myzel einer Variante wurde dazu in einem Büchnertrichter mit einem zuvor gewogenen, aschefreien Rundfilter eingetragen, nachgewaschen, bei 102° getrocknet und die TS durch Wägung ermittelt. Die P-Bestimmungen wurden wie bei Lyr & Ziegler (1959 b) beschrieben ausgeführt (Molybdänblaumethode). Für die pH-Wert-Messungen benutzten wir ein Röhrenvoltmeter mit Glaselektroden-Meßkette. Zur Ermittlung der Reduktionswerte („Glukose") der NL verwendeten wir die Dinitrosalicylsäure-Methode (Sumner & Somers 1949). Die für die Bestimmung des Reduktionswertes notwendige Hydrolyse der Saccharose konnte

gegen
Ekzeme

Munitren®



0,5%ige, fettfreie
Hydrocortisonsalbe
mit Mehrfach-Effekt
Antiekzematös
Antimykotisch
Antibakteriell

Preissenkung!

5g DM 2.20
20g DM 6.65
o.U. lt. A.T.

ROBUGEN GMBH PHARMAZEUTISCHE FABRIK ESSLINGEN/N

ROBUGEN

435

0284

Antihydral®

gegen Hyperhidrosis
13% Hexamethylentetramin
Tube mit ca. 70 g

Antihydral „M"®

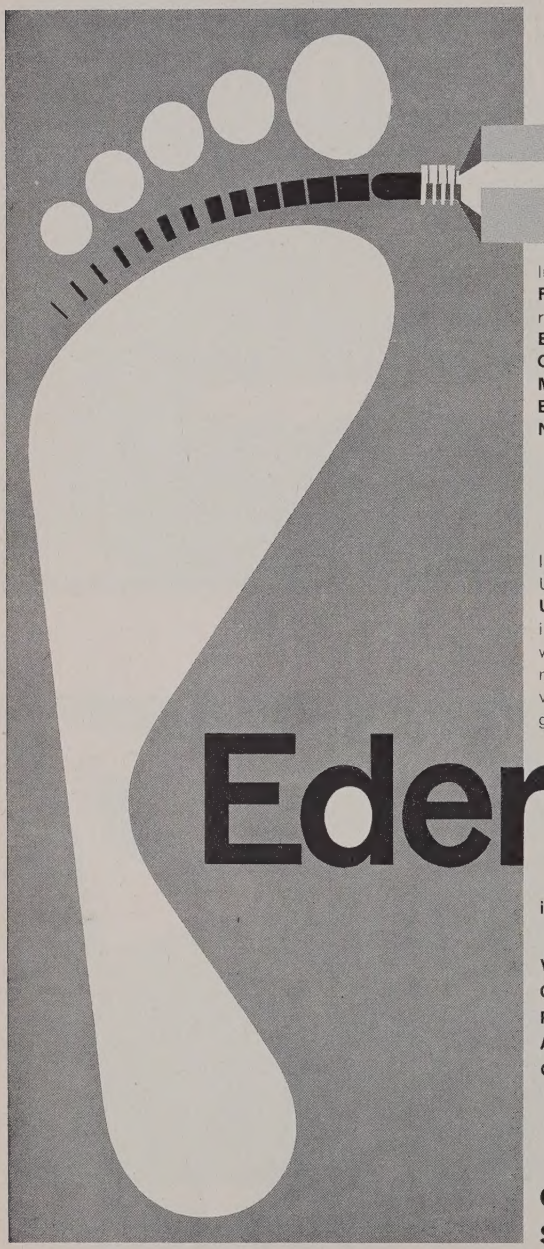
gegen Dermatomykosen und Hyperhidrosis
10% Schwefel + 10% Hexamethylentetramin
Tube mit ca. 70 g

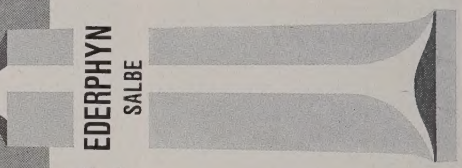
Information

Antihydral Milde Gerbung der Haut durch gesteuerte Formalinabspaltung. Desinfizierende Wirkung und damit rasche Desodorierung. Lokale Anwendung, keine Allgemeinwirkungen.

Antihydral „M" Spezifischer antimykotischer Effekt, gleichzeitig Beseitigung der für Mykosen ursächlich bedeutungsvollen übermäßigen Schweißabsonderung.

ARZNEIMITTEL **ROBUGEN** ESSLINGEN/N





Indikationen:
Fuss- und Handmykosen (Epidermophyton rubrum, Epidermophyton interdigitale)
Ekzema marginatum (Epidermophyton inguinale)
Oberflächliche Trichophytien und Mikrosporien (Herpes circinatus)
Erythrasma
Nagelmykosen

Im Gegensatz zur bisher gebräuchlichen freien Undecylensäure dringt der neue **lipoidlösliche Undecylensäurephenolester** im Ederphyn rasch in die Keratinschicht der Haut. Diese gezielte Tiefenwirkung fördert den fungiziden Prozess und vermindert das Auftreten von Rezidiven. Die Esterverbindung der Undecylensäure ist zudem praktisch geruchlos.

Ederphyn

intradermal wirksames Antimykotikum

Vorzüge:
Gutes Eindringen in die Hornschicht.
Rasch einsetzende juckreizstillende Wirkung.
Angenehm, da geruchlos und nicht fleckend.
Gut verträglich auch für empfindliche Haut.

Galactina GmbH
Schulstraße 3, Frankfurt/M

mit 0,5 n HCl (Endkonzentration) nach 10 Minuten bei 100 °C (Wasserbad) abgeschlossen werden. Maltose mußte mit 0,75 n H_2SO_4 bei 100 °C 2 Stunden am Rückflußkühler hydrolysiert werden. Stärke (Amylum solubile) wurde einer 2-stündigen Hydrolyse mit 1 n H_2SO_4 am Rückflußkühler bei 100 °C unterworfen. Die Hydrolysate wurden abschließend neutralisiert und bis zur Aufarbeitung im Kühlschrank aufbewahrt. Für die Stickstoffbestimmungen erfolgte die Veraschung der getrockneten Myzelien und der eingedampften NL-Aliquote mit konc. H_2SO_4 und Selen-Katalysator. Die Ammoniak-Destillation wurde mit der Mikro-Apparatur nach P a r n a s - W a g n e r ausgeführt. Die vorgelegte 0,01 n H_2SO_4 wurde jodometrisch zurücktitriert. (Einzelheiten bei Z i e g l e r 1957). Weitere Erläuterungen sind — soweit erforderlich — bei der Beschreibung der Versuche angegeben.

Beschreibung und Ergebnisse der Versuche

Aus anderen Versuchen mit dem von uns verwendeten *M. canis*-Stamm war bekannt, daß der Pilz nach 3 bis 4 Wochen unter den angegebenen definierten Bedingungen (25 °C, 50 ml NL, 200-ml-K) das Maximum der Trockensubstanzbildung (TS) erreicht hat. Nach 5-wöchiger Kultur kann bereits Autolyse einsetzen (Z i e g l e r 1961).

Wir führten zunächst ernährungsphysiologische Versuche mit einfachen NL durch (NL 1 bis 4 c), wobei es in erster Linie um die Klärung der Frage ging, welche Stoffwechselleistungen *M. canis* auf unseren Substraten hervorbringt. Die verschiedenen Nährstoffkombinationen enthalten äquivalente Stickstoff - (N) und Kohlenhydrat- (KH) -Mengen. Lediglich die C_4-Kette des Asparagins erhöht das C-Angebot etwas gegenüber den Harnstoff-Varianten. Außerdem wurde der Einfluß des B-Vitamine-Komplexes (BVK) auf den Pilz bestimmt.

Als Kriterien für die Verwertbarkeit der verschiedenen KH- und N-Quellen durch den Pilz wurden herangezogen:

1. Die Myzeltrockensubstanzproduktion.
2. Die Stickstoff-Assimilation.
3. Die Aufnahme von anorganischem Phosphat aus der NL und der Einbau dieses Phosphors in das Myzel.
4. Die Veränderung des pH-Wertes der NL durch den wachsenden Pilz ($\triangle \frac{A}{E} pH_{NL}$).
5. Die Resorption der Kohlenhydrate aus der Nährlösung.

Wenn auch nur die Ausgangs- und Endwerte ermittelt worden sind, so ergeben die Untersuchungen doch eindeutig, welche KH- und N-Verbindungen *M. canis* verwerten kann und welche Wirkung sie auf den pH-Verlauf, die P-Aufnahme und den „Ökonomischen Koeffizienten" (G o d d a r d , 1934) ausüben. Zu weitergehenden Ergebnissen kommt man mit Versuchen, die über den zeitlichen Verlauf der N-, KH- und P-Aufnahme, der TS-Bildung, der pH-Veränderungen in der NL usw. Auskunft geben. Derartige Untersuchungen sind von uns im Zusammenhang mit anderen Fragestellungen bereits ausgeführt worden (B ö h m e & Z i e g l e r 1960, Z i e g l e r 1961).

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe zusammengestellt.

Da wir den Pilz unter konstanten Bedingungen kultivierten, sind die TS-Werte ein repräsentatives Maß dafür, in welchem Umfang die gebotenen KH- und N-Quellen für den Bau- und Betriebsstoffwechsel verwertet werden können. In der Reihe der KH-Varianten führte in Verbindung mit Asparagin — wie zu erwarten — das Monosaccharid Glukose. Die beiden Disaccharide Saccharose und

Tabelle 1

Der Einfluß verschiedener Kohlenhydrat- und Stickstoffquellen sowie der B-Vitamine auf die Trockensubstanzproduktion und den P-Haushalt und die Veränderung der pH-Werte der NL ($\triangle\frac{A}{E}pH_{NL}$) durch Microsporon canis.

NL	Versuchs-variante		pH der NL		ml NL/K		TS	mg P in 1 K		P in % der TS
			A	E	U	B	mg/K	NL	TS	
1	Glukose	1.	6,5	7,9	40	39	69	0,75	0,57	0,83
	Asparagin	2.	6,6	8,1	40	37	90	0,64	0,64	0,71
		∅	6,6	8,0	40	38	80	0,70	0,61	0,75
1a	Glukose	1.	6,4	7,8	40	39	66	0,71	0,57	0,86
	Asparagin	2.	6,4	8,1	40	36	87	0,66	0,66	0,76
	BVK	∅	6,4	8,0	40	38	77	0,69	0,62	0,81
1b	Glukose Harnstoff	∅	6,9	7,4	40	40	59	0,88	0,40	0,68
1c	Glukose Harnstoff BVK	∅	6,8	5,5	40	38	100	0,40	0,92	0,92
2	Saccharose Asparagin	∅	4,9	8,8	42	38	34	0,90	0,38	1,11
2a	Saccharose Asparagin BVK	∅	4,8	8,7	40	38	49	0,87	0,40	0,82
2b	Saccharose Harnstoff	∅	7,7	7,5	40	42	14	1,04	0,22	1,57
2c	Saccharose Harnstoff BVK	∅	7,7	7,4	40	39	24	1,08	0,24	1,00
3	Maltose Asparagin	∅	4,8	8,9	40	39	28	1,00	0,26	0,93
3a	Maltose Asparagin BVK	∅	4,6	8,7	40	39	25	0,90	0,34	1,36
3b	Maltose Harnstoff	∅	6,5	7,7	37	36	28	1,04	0,24	0,86
3c	Maltose Harnstoff BVK	∅	6,3	7,4	40	39	30	0,86	0,46	1,53
4	Lösl. Stärke Asparagin	∅	5,7	8,2	36	36	63	0,88	0,43	0,68
4a	Lösl. Stärke Asparagin BVK	∅	5,7	8,6	40	36	62	0,95	0,43	0,69
4b	Lösl. Stärke Harnstoff	∅	7,7	8,2	40	38	44	1,03	0,29	0,64
4c	Lösl. Stärke Harnstoff BVK	∅	7,7	8,4	40	39	60	0,98	0,36	0,60
VK	z. Vergleich		5,8	4,2	42	37	183	—	—	—

Erläuterungen: pH der NL: A: zu Beginn, E: bei Abschluß der Versuche. ml NL/K: U: Volumina der NL in unbeimpften, B: in beimpften Kulturkolben (K) bei Versuchsende. TS: Myceltrockensubstanz. P: P-Gehalt der NL bzw. der TS / 1 K. P-Ausgangswert: 1,30 ± 0,04 mg P in 50 ∓ 2 ml NL.

Maltose ermöglichten dem Pilz nur eine mäßige TS-Produktion. Wurde Stärke (Amylum solubile) als KH-Quelle eingesetzt, so betrug die TS-Ausbeute ungefähr 75 % der korrespondierenden Glukose-Werte. Die Größenordnung der Streuung vermitteln die Angaben für NL 1 und NL 1 a in Tabelle 1, wobei man berücksichtigen muß, daß die Einzeldaten bereits Durchschnittswerte von mindestens 10 Kulturkolben sind. In Parallel-Ansätzen wurde Harnstoff als N-Quelle mit den verschiedenen KH kombiniert. Die Befunde sind im Prinzip mit den Glukose-Asparagin-Werten identisch. BVK-Zugabe führte bei den N-KH-Varianten 1c, 2a, 2c, 4c zu einer Steigerung der Zuwachsrate. Die große Bedeutung der P-Verbindungen im Stoffwechsel ist bekannt. Die Betrachtung allein der prozentischen P-Werte (P in % der TS) hat dabei keinen weitreichenden Aussagewert. Estmalig sind — unseres Wissens — jetzt im Zusammenhang mit der Bearbeitung ernährungsphysiologischer Probleme bei Dermatomyzeten P-Bestimmungen und die Aufstellung der P-Bilanzen ausgeführt worden. Die P-Aufnahme ist von der P-Konzentration in der NL nur bedingt abhängig. Eine Hemmung der Zuwachsrate ist fast immer ursächlich mit einer Störung der P-Aufnahme verbunden. P-Ausscheidungen deuten auf destruktive Stoffwechselvorgänge hin. Im allgemeinen neigen die Pilze und auch andere Organismen dazu, vor dem Einsetzen der Hauptwachstumsphase P in Form von Polyphosphaten zu speichern (L a n g e n & L i s s 1958, L y r & Z i e g l e r 1959 b; dort Lit.-Zusammenstellung). Die Ergebnisse unserer P-Untersuchungen bestätigen diese Tendenz der Pilze, P zu speichern. Das kann man aus den relativ hohen P-Werten der auf Grund der ungünstigen KH-N-Kombinationen schlecht gewachsenen Varianten 2, 2b, 2c, 3, 3a, 3b, 3c ableiten. Einen optimalen P-Einbau finden wir bei 1c, 1a, 1, 4 und 4a.

Der pH-Wert der NL wird von verschiedenen Faktoren bestimmt und beeinflußt seinerseits die Nährstoffaufnahme, die Aktivität der Enzyme u. a. m. (R o b b i n s u. M a 1945). Der pH-Wert der NL wird durch die Stoffwechselaktivität der wachsenden Pilze verändert. Wie wir feststellen konnten, ergeben sich für *M. canis*

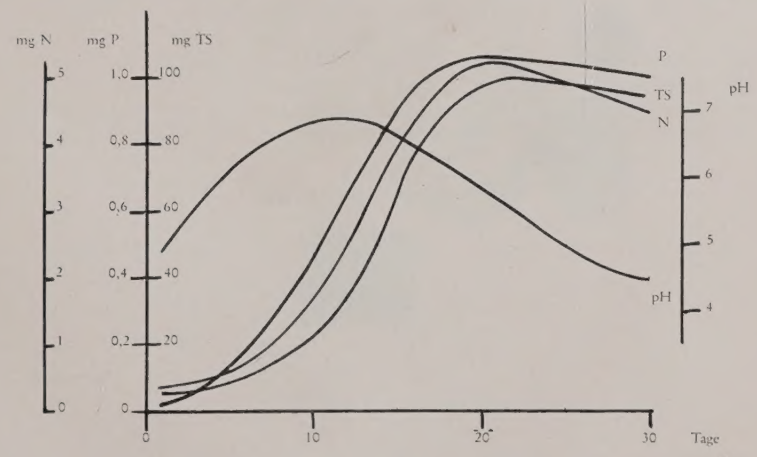


Abb. 1. Zeitlicher Verlauf der TS-Produktion, des P- und N-Gehaltes des Myzels sowie der pH-Wert-Veränderungen in der NL. M i c r o s p o r o n c a n i s. Einzelheiten s. Text

unter besseren (NL 5) Bedingungen die in Abb. 1 dargestellten Daten. Bei unseren Versuchen wurde in erster Linie durch die N-Quelle der Ausgangs-pH-Wert (pH_A) festgelegt, während die anderen Bestandteile der NL nur einen geringen Einfluß ausübten. Asparagin mit Glukose kombiniert (1, 1a) ergab einen fast neutralen pH_A, Asparagin mit Saccharose, Maltose oder löslicher Stärke eingesetzt, führte zu schwach saurem pH_A. Bei sämtlichen NL mit Asparagin als N-Quelle resultierte bei Versuchsende ein im schwach Alkalischen liegender pH-Wert (pH_E). Das läßt vermuten, daß unter den Bedingungen der NL 1, 1a, 2, 2a, 3, 3a, 4 und 4a der Pilz nicht den Gipfel seiner Wachstumskurve erreichen konnte.

Die NL mit Harnstoff als N-Quelle (1b, 1c, 2b, 2c, 3b, 3c, 4b und 4c) hatten insgesamt einen etwas höheren pH_A als die analogen Asparagin-Versuchsvarianten:

ϕ pH_A (Harnstoff) : $7{,}2 \pm 0{,}2$

ϕ pH_A (Asparagin) : $5{,}4 \pm 0{,}3$

Auch hier ist die Annahme berechtigt, aus den pH_E-Daten zu entnehmen, daß nur dann optimale Wachstumsbedingungen vorlagen, wenn $pH_E < pH_A$ ist. Dies traf nur für 1c zu. Gleichbleibende oder ansteigende pH-Werte zeigen unzulängliche NL an.

Ferner ist der Gehalt der Nährlösungen an reduzierenden Substanzen (Reduktionswert, RW) bei einigen Versuchsvarianten ermittelt worden. Für die vollständige Bestimmung der KH-Resorption wären umfangreichere Analysen notwendig. Die Differenzen zwischen den RW der Kontrolle und den RW der beimpften Kolben sind nur mit Vorbehalt ein Maß für die KH-Aufnahme, da andere ggf. sogar vom Pilz ausgeschiedene reduzierende Substanzen störend wirken können. Damit ist zu rechnen, auch wenn das Wachstum noch nicht weitgehend abgeschlossen ist. (Lyr & Ziegler 1959a). Die Bewertung der von Goddard (1. c.) aufgestellten „Ökonomischen Koeffizienten" (g KH-Verbrauch/g TS; $K_Ö$) ist deshalb etwas problematisch. Goddard fand für

Trichophyton mentagrophytes	$K_Ö$ 1,7 (N-Quelle Pepton)
Aspergillus niger	$K_Ö$ 2,7 (N-Quelle Asparagin)
Aspergillus niger	$K_Ö$ 2,8 (N-Quelle $[NH_4]_2SO_4$)
Aspergillus niger	$K_Ö$ 3,4 (N-Quelle $NaNO_3$)

Wenn schon für den frohwüchsigen und anspruchslosen *A. niger* die $K_Ö$ 2,7 und 2,8 sind, so ist der für *Tr. mentagrophytes* gefundene $K_Ö$ 1,7 sicher durch die

Tabelle 2

Ökonomische Koeffizienten

NL	$K_Ö$	NL	$K_Ö$	NL	$K_Ö$	NL	$K_Ö$	N-Quelle
1	1,3	2	1,3	3	1,7	4	2,3	Asparagin
1a	1,2	2a	1,6	3a	2,4	4a	2,5	
1b	1,8	2b	—	3b	2,8	4b	—	Harnstoff
1c	1,8	2c	—	3c	—	4c	—	
Glukose		Saccharose		Maltose		Lösl. Stärke		

(Erläuterungen im Text).

Frei

von

Fußpilzen

durch

novex®

Salbe

Lösung

Puder

boehringer

C F BOEHRINGER & SOHNE GMBH MANNHEIM

EXCERPTA MEDICA

7000 medizinische Wissenschaftler referieren als ständige Mitarbeiter

Internationales medizinisches Referatenblatt in englischer Sprache. Die Excerpta Medica helfen Ihnen Zeit sparen. Sie orientieren in konzentrierter und objektiver Form über alle neuen Erkenntnisse Ihres Fachgebietes. Sie vermitteln alles Wesentliche aus der medizinischen Literatur der ganzen Welt.

Section XIII: Dermatology and Venereology

In dieser Sektion werden Auszüge veröffentlicht über physiologische, pharmakologische, endokrinologische und bakterioserologische Themen, die für die Dermatologie von Interesse sind. Besondere Abschnitte beziehen sich auf die Wirksamkeit der therapeutischen und vorbeugenden Bemühungen, die Sozialgesetzgebung usw.

Jährlich 12 Hefte mit insgesamt ca. 3400 Referate. — Abonnementpreis pro Jahrgang: DM 83,— einschl. Versandspesen. — Bestellungen nimmt jede Buchhandlung entgegen.

EXCERPTA MEDICA FOUNDATION

AMSTERDAM · LONDON · NEW YORK

ZEITSCHRIFTEN UNSERES VERLAGES

Zeitschrift für Haut und Geschlechtskrankheiten

Organ des Praktikers
Begründet von Erich Langer†
Schriftleitung:
Prof. Dr. med. Heinz Grimmer, Berlin
Preis des Einzelheftes DM 2,50
Im Jahr erscheinen zwei Bände mit je 12 Heften
Preis je Band DM 30,— zuzüglich Porto

Mykosen

Organ der Deutschsprachigen Mykologischen Gesellschaft als Sektion der „International Society for Human and Animal Mycology"
Schriftleitung:
Prof. Dr. med. Heinz Grimmer, Berlin
Preis des Einzelheftes DM 2,50
Erscheinungsweise vierteljährlich

Aesthetische Medizin

(Medizinische Kosmetik)

Kongreßorgan der Deutschen Gesellschaft für die Aesthetische Medizin und ihre Grenzgebiete
Schriftleitung:
Prof. Dr. med. H. Th. Schreus, Düsseldorf
Prof. Dr. med. K. Halter, Berlin
Erscheint monatlich, Bezugspreis vierteljährlich DM 10,—

Berliner Medizin

Organ für die gesamte praktische und theoretische Medizin
Schriftleitung:
Prof. Dr. med., Dr. med. vet. h. c.
M. H. Fischer, Berlin
Erscheint zweimal im Monat, Abonnementspreis pro Quartal DM 4,50 zuzüglich Porto

BERLINER MEDIZINISCHE VERLAGSANSTALT GROSSE

BERLIN-LICHTERFELDE

Versorgung des Pilzes mit den C-Ketten des Peptons hervorgerufen. Folgende $K_{ü}$ konnten wir aus unserem Zahlenmaterial berechnen (siehe Tab. 2).
Bei *M. canis* bedingt Asparagin (C_4) im Gegensatz zu A. niger offenbar die niedrigen $K_{ü}$. Wird Harnstoff (C_1) als N-Quelle geboten, so erhöht sich erwartungsgemäß der $K_{ü}$. Eine Beurteilung und Gegenüberstellung der Stoffwechselintensität verschiedener Pilze mittels der Ökonomischen Koeffizienten scheint uns deshalb nur bei Berücksichtigung aller Wachstumsfaktoren sinnvoll.
Da nur die RW_A und die RW_E bestimmt worden sind, lassen sich aus unseren RW keine Rückschlüsse für das Vorhandensein von Ektoenzymen des KH-Abbaues ableiten. Da aber *M. canis* lösl. Stärke als KH-Quelle verwerten kann, ist an dem Vorhandensein einer Ekto-Amylase wohl kaum zu zweifeln.
Für die weiteren Untersuchungen verwandten wir die NL 5 bis 8b, die sich von den NL 1 bis 4c durch etwas veränderte molare Konzentrationen der Hauptnährstoffe und durch ein erweitertes Ionenangebot (NaCl 10^{-2} m, Ca Cl_2 10^{-3} m) unterscheiden. Die Zugabe des B-Vitamine-Komplexes wurde beibehalten, wenn auch nur bei einem Teil der vorgehenden Versuche (1c, 2a, 2c, 4c) ein wachstumstimulierender BVK-Effekt erzielt worden war. Wir gaben BVK, um für den Pilz möglichst optimale Wachstumsbedingungen zu schaffen. Eine Wachstumshemmung durch BVK resultierte nie. Ferner erhielten die NL zusätzlich geringe Mengen der Aminosäuren l-Histidin-HCl, dl-Methionin und Tryptophan. Dabei berücksichtigten wir die Angaben verschiedener Autoren (z. B. Georg 1951, Silva & Benham 1952, Stockdale 1953, Kaden 1957/58 und Bereston 1958). Für gutes Gedeihen der Pilze ist außerdem das Vorhandensein einer Reihe von Spurenelementen (Mikronährstoffe) erforderlich. Über die einzusetzenden Konzentrationen liegen zum Teil widerspruchsvolle Angaben vor (Bereston l.c., Burkholder & Moyer 1943, Humfeld & Sugihara 1952, u. a. m.). Nicht um die Notwendigkeit der einzelnen Elemente zu ermitteln, sondern um einem eventuellen Mikronährstoffmangel vorzubeugen, vervollständigen wir die NL 5 bis 8b durch Zugabe einer entsprechenden Salzlösung mit Zn 0,2 · 10^{-5} m, Fe 10^{-6} m, Cu 0,2 · 10^{-6} m, Mn 10^{-6} m, B 0,4 · 10^{-5} m, J 0,2 · 10^{-6} m, Mo 0,4 · 10^{-7} m. Höhere Schwermetallkonzentrationen müssen vermieden werden, da sie toxisch wirken (Nickerson 1946, u. a. m.).
Die Versuche mit veränderten NL wurden ebenso ausgewertet, wie die im vorangehenden Teil dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen. Glukose, Saccharose, Maltose und lösliche Stärke dienten als Kohlenhydratequellen, die wir mit Asparagin (C_4), Harnstoff (C_1) oder Ammoniumsulfat (C_0) kombinierten. Ferner variierten wir in Parallel-Ansätzen die KH-Quelle durch Reduzierung ihrer Konzentration auf $^{9}/_{10}$ und Ersatz des fehlenden Zehntels durch „Liebes" Malzextrakt. In Tabelle 3 sind die mit glukosehaltigen NL erzielten Ergebnisse zusammengefaßt.

Es bestätigten sich im Prinzip die Befunde der anfangs beschriebenen Versuche. Die in jedem Falle bei gleicher KH-Konzentration und sogar etwas herabgesetzter N-Konzentration über den korrespondierenden Werten der NL 1a und 1c liegenden TS-Werte, führen wir auf die durch verschiedene Zusätze wie NaCl, $CaCl_2$, 3 Aminosäuren, Mikronährstoffe verbesserten NL 5 usw. zurück:

mg TS (1a) 77, (5) 105; mg TS (1c) 100, (5b) 116.

Die früher relativ große Differenz zwischen Asparagin und Harnstoff ist geringer geworden, wenn auch mit diesem weiterhin die höchsten TS-Werte erzielt wurden. Das anorganische Ammoniumsulfat konnte von *M. canis* kaum genutzt werden.

Tabelle 3

Der Einfluß verschiedener Stickstoffquellen auf die Trockensubstanzproduktion und den P-Haushalt und $\triangle_E^A pH_{NL}$ durch Microsporon canis. Kohlenhydratquelle Glukose

NL	Versuchsvariante		pH der NL		ml NL/K		TS	mg P in 1 K		P in % der TS
			A	E	U	B	mg/K	NL	TS	
5		1.	5,2	4,4	42	39	109	0,80	1,44	1,32
		2.	5,1	4,4	42	38	99	0,66	1,62	1,63
	Asparagin	3.	4,8	4,5	44	39	98	1,23	1,12	1,14
		4.	4,8	4,2	40	38	115	0,69	1,64	1,44
		∅	5,0	4,4	42	39	105	0,85	1,46	1,39
5a		1.	5,1	2,5	41	41	36	2,05	0,29	0,81
	$(NH_4)_2SO_4$	2.	4,9	2,6	42	39	25	1,92	0,34	1,36
		∅	5,0	2,6	41	40	31	1,99	0,32	1,03
5b		1.	6,5	4,0	45	36	134	1,04	1,26	0,94
		2.	6,9	6,5	42	34	101	1,50	0,76	0,75
		3.	6,8	3,4	43	34	105	1,35	0,92	0,88
	Harnstoff	4.	5,5	4,2	42	35	130	1,28	1,05	0,81
		5.	6,9	6,5	42	34	104	1,19	1,10	1,06
		∅	6,5	4,9	42	35	116	1,27	1,02	0,88
5M	Asparagin	1.	5,4	5,0	40	35	124	0,98	1,34	1,08
	+	2.	5,6	5,2	42	37	144	0,87	1,41	0,98
	Malzextrakt	∅	5,5	5,1	41	36	134	0,93	1,38	1,03
5aM	$(NH_4)_2SO_4$	1.	5,4	2,5	45	45	27	1,80	0,45	1,67
	+	2.	4,0	2,6	41	40	27	1,66	0,69	2,55
	Malzextrakt	∅	4,7	2,6	43	43	27	1,73	0,57	2,11
5bM	Harnstoff	1.	7,0	6,1	45	37	130	1,17	1,15	0,88
	+	2.	6,8	6,5	44	42	101	1,12	1,20	1,19
	Malzextrakt	3.	6,9	6,9	37	34	96	1,45	0,81	0,84
		∅	6,9	6,5	42	38	109	1,25	1,05	0,97

Erläuterungen: Der Zusatz „M" bei den NL-Angaben besagt, daß $^1/_{10}$ der Glukose durch Extr. malti pur. sicc. pulv. „Liebe" ersetzt ist. Erklärung der Abkürzungen: siehe Erläuterungen zu Tabelle 1:

Aus den P-Bilanzen ist zu entnehmen, daß der Pilz entsprechend dem erhöhten P-Angebot verstärkt P im Myzel festlegte:

mg P/1 My: (1a) 0,61, (5) 1,46.

Der P-Gehalt der mit Harnstoff versorgten Versuchsvarianten liegt unter den analogen Asparagin-Werten. Das beruht darauf, daß in harnstoffhaltigen NL nach dem Sterilisieren im Autoklaven ein Teil des P bedingt durch das Ansteigen des pH als wenig lösliche Schwermetallphosphate ausgefällt wird, deren Aufnahme für den Pilz erschwert ist.

Aus den pH-Werten ist abzuleiten, daß auf Grund der verbesserten Nährstoffversorgung das Hauptwachstum nach 28-tägiger Kultur abgeschlossen war. Unsere Forderung $pH_E < pH_A$ ist erfüllt. Dagegen sprechen auch nicht die pH-Werte der NL 5a. Ammoniumsulfat ist ein physiologisch saures Salz. Wenn der Pilz anfangs bevorzugt NH_4 aufnimmt, verändert sich die Wasserstoffionen-

konzentration in der NL und erreicht toxische Werte, die ein Weiterwachsen hemmen. Das in diesem Falle zwar geringe Wachstum kann als abgeschlossen betrachtet werden.
Von dem Malzextraktzusatz erwarteten wir allgemein eine Wachstumsförderung. Dies traf jedoch nur für 5M (Asparagin) zu. Die inhibierende Wirkung des Ammoniumsulfat konnte durch Malzextrakt nicht gemindert werden.

Tabelle 4

Der Einfluß verschiedener Stickstoffquellen auf die Trockensubstanzproduktion und den P-Haushalt und $\frac{A}{E}$ pH_{NL} durch Microsporon canis. Kohlenhydratquelle: Saccharose.

NL	Versuchs-variante		pH der NL		ml NL/K		TS	mg P in 1 K		P in % der TS
			A	E	U	B	mg/K	NL	TS	
6		1.	5,8	8,3	41	41	34	1,51	0,70	2,05
	Asparagin	2.	4,2	7,6	40	41	57	1,28	1,10	1,93
		∅	5,0	8,0	41	41	46	1,40	0,90	1,99
6a		1.	6,0	2,5	40	41	29	1,83	0,49	1,69
	$(NH_4)_2SO_4$	2.	4,2	2,7	40	42	25	1,75	0,53	2,11
		∅	5,1	2,6	40	42	27	1,79	0,51	1,89
6b		1.	5,2	8,8	41	41	29	1,86	0,46	1,54
	Harnstoff	2.	4,8	8,3	39	37	21	1,78	0,40	1,90
		∅	5,0	8,5	40	39	25	1,82	0,43	1,72
6M	Asparagin Malzextr.	∅	6,4	7,4	42	40	37	1,30	0,96	2,58
6aM	$(NH_4)_2SO_4$ Malzextr.	∅	4,9	2,5	42	40	27	1,80	0,55	2,04
6bM	Harnstoff Malzextr.		7.7	8.5	42	41	10	2,01	0,23	2,37

Erläuterungen: Der Zusatz „M" bei den NL-Angaben besagt, daß $^1/_{10}$ der Saccharose durch Extr. malti pur. sicc. pulv. „Liebe" ersetzt ist. Erklärung der Abkürzungen: siehe Erläuterungen zu Tabelle 1.

Alsdann folgten die Saccharose-Versuchsreihen (siehe Tabelle 4). Auch hier stimmten die Ergebnisse mit den anfangs gemachten Angaben überein. Saccharose eignet sich nicht als KH-Quelle, die TS-Ausbeute ist entsprechend gering (mg TS [2a]: 49; [6]: 46) parallel dazu verläuft die P-Aufnahme, wobei sich allerdings das erhöhte P-Angebot auch hier bemerkbar machte (mg P My [2a]: 0.40; [6]: 0.90). $pH_E > pH_A$ zeugt von der Unausgeglichenheit dieser Nährstoffkombination, die dem Pilz innerhalb 4 Wochen kein abgeschlossenes Wachstum ermöglicht.
Harnstoff mit Saccharose kombiniert gestattete dem Pilz ebenfalls nur eine geringe TS-Produktion. Obschon diese NL-Variante durch Säurezugabe auf ein pH_A von 5 eingestellt worden war, um das Ausfallen der Schwermetallphosphate zu unterbinden, erfolgte keine wesentliche Steigerung der P-Aufnahme. pH_E 8.5 zeigt an, daß der Pilz unter den ungünstigen Bedingungen dieser Versuchsvariante in 4 Wochen sein Wachstum nicht abschließen konnte.

Die Ammoniumsulfat-Saccharose-Kombination (6a) erwies sich erwartungsgemäß als praktisch ungeeignet für *M. canis*.
Malzextrakt-Zusatz führte hier in keinem Fall (6M, 6aM und 6bM) zu einer Verbesserung der TS-Ausbeute.
Überraschend waren für uns die Ergebnisse der Versuche zur Bestimmung der Verwertbarkeit der Maltose (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5

Der Einfluß verschiedener Stickstoffquellen auf die Trockensubstanzproduktion und den P-Haushalt und $\triangle {}^{A}_{E}pH_{NL}$ durch Microsporon canis. Kohlenhydratquelle: Maltose.

NL	Versuchs-variante		pH der NL		ml NL/K		TS	mg P in 1 K		P in % der TS
			A	E	U	B	mg/K	NL	TS	
7		1.	5,6	8,3	41	40	29	1,39	0,88	3,03
	Asparagin	2.	4,3	8,2	40	41	24	1,20	1,13	4,71
		∅	5,0	8,3	41	41	27	1,30	1,01	3,75
7a		1.	4,9	3,1	43	39	18	1,87	0,40	2,22
	$(NH_4)_2SO_4$	2.	4,4	2,9	42	40	19	1,69	0,65	3,36
		∅	4,7	3,0	43	40	19	1,78	0,52	2,74
7b		1.	5,9	6,9	40	40	12	1,95	0,32	2,67
	Harnstoff	2.	6,7	7,2	45	41	21	2,05	0,28	1,33
		∅	6,3	7,1	43	41	17	2,00	0,30	1,76
7M	Asparagin Malzextrakt	∅	4,9	8,0	42	39	24	1,52	0,78	3,25
7aM	$(NH_4)_2SO_4$ Malzextrakt	∅	4,4	2,9	42	40	19	1,66	0,64	3,36
7bM	Harnstoff Malzextrakt	∅	6,9	7,7	42	40	29	1,38	0,92	3,17

Erläuterungen: Der Zusatz „M" bei den NL-Angaben besagt, daß $^1/_{10}$ der Maltose durch Extr. malti. pur. sicc. pulv. „Liebe" ersetzt ist. Erklärung der Abkürzungen: siehe Erläuterungen zu Tabelle 1.

Maltose wird bisweilen als eine der Glukose gleichwertige KH-Quelle empfohlen. Z. B. fand Goddard (l.c.), daß *M. canis* mit Maltose ungefähr 75 % der sonst mit Glukose erzielten TS erreicht, allerdings verwendete er Pepton, wie für das Sabouraud-Medium vorgeschrieben, als N-Quelle. Schon unsere anfangs erzielten Resultate (NL 3 bis 3c) entsprachen dem nicht. Unser *M. canis*-Stamm wuchs auf den maltosehaltigen NL (7 bis 7bM) schlecht. Die TS-Ausbeute war in jedem Fall sehr gering. Der Malzextraktzusatz war ohne jegliche Wirkung (7M bis 7bM). Wahrscheinlich beruht die Unfähigkeit unseres *M. canis*-Stammes, Maltose (D-Maltose, Erg. B. 6, Merck, Darmstadt) zu verwerten, auf einer durch die N-Quellen unserer NL hervorgerufenen Verminderung der Synthese von Endomaltase. Die pH-Werte der Maltose-Reihen entsprachen unserem Postulat: $pH_E > pH_A$ im Falle unabgeschlossenen Wachstums. Die durch das Ammoniumsulfat bedingte Abweichung davon ist bereits diskutiert.
Schließlich galt es noch zu klären, inwieweit lösliche Stärke als KH-Quelle durch den Pilz genutzt werden kann (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6

Der Einfluß verschiedener Stickstoffquellen auf die Trockensubstanzproduktion und den P-Haushalt und $\triangle \frac{A}{E}$ pH_{NL} durch Microsporon canis. Kohlenhydratquelle: lösliche Stärke (Amylum solubile).

NL	Versuchs-variante		pH der NL		ml NL/K		TS	mg P in 1 K		P in der TS
			A	E	U	B	mg/K	NL	TS	
8	Asparagin	1.	3,2	6,4	43	40	41	1,71	0,54	1,32
		2.	3,3	6,2	43	40	36	1,89	0,46	1,27
		∅	3,3	6,3	43	40	39	1,80	0,50	1,28
8a		1.	2,9	3,3	41	43	11	1,85	0,44	4,00
	$(NH_4)_2SO_4$	2.	3,3	2,9	45	39	7	1,98	0,24	3,42
		∅	3,1	3,1	43	41	9	1,91	0,34	3,78
8b		1.	5,7	4,9	40	34	112	1,46	0,89	0,79
	Harnstoff	2.	6,9	6,5	43	37	73	1,71	0,54	0,74
		∅	6,3	5,7	42	36	93	1,59	0,72	0,77
8M		1.	4,0	6,6	43	43	61	1,53	0,82	1,34
	Asparagin	2.	4,5	7,3	43	38	44	1,74	0,51	1,14
	Malzextrakt	∅	4,3	7,0	43	41	53	1,64	0,67	1,26
8aM	$(NH_4)_2SO_4$	1.	3,7	3,2	45	42	12	2,10	0,24	2,00
	Malzextrakt	2.	3,3	3,0	42	39	5	2,11	0,15	3,00
		∅	3,5	3,1	44	41	9	2,10	0,20	2,20
8bM		1.	7,5	8,4	40	40	21	2,00	0,24	1,14
	Harnstoff	2.	7,3	8,4	40	38	43	1,76	0,60	1,39
	Malzextrakt	∅	7,4	8,4	40	39	32	1,88	0,42	1,32

Erläuterungen: Der Zusatz „M" bei den NL-Angaben besagt, daß $^1/_{10}$ der lösl. Stärke durch Extr. malti pur. sicc. pulv. „Liebe" ersetzt ist. Erklärung der Abkürzungen: siehe Erläuterungen zu Tabelle 1.

Lösliche Stärke kann von *M. canis* — wie bereits erwähnt (NL 4 bis 4c) — für den Aufbau- und Erhaltungs-Stoffwechsel in Verbindung mit den organischen N-Quellen Asparagin oder Harnstoff verwertet werden. Diese Ergebnisse ließen sich mit den erweiterten NL 8 bis 8bM bestätigen. Aus schon erläuterten Gründen war der P-Einbau intensiver als bei unseren ersten Untersuchungen, wenn auch nicht die P-Bilanzen der Glukose-Asparagin-Varianten erreicht worden sind. Dem Pilz gelang mit der Kombination Stärke-Harnstoff fast die gleiche TS-Produktion wie er sie mit Glukose als KH-Quelle erzielte. Stärke mit Ammoniumsulfat zusammen eingesetzt, brachte völlig unzureichende TS-Erträge. Die pH-Werte zeigten keine Abweichungen von der Norm. Bei gutem Wachstum resultierte $pH_E < pH_A$. Auch hier führte der Zusatz von Malzextrakt nur im Falle Stärke-Asparagin (8M) zu einer Steigerung der TS-Produktion (vergl. dazu Tab. 3, NL 5 und 5M). Die TS-Ausbeute mit der Nährstoffkombination Harnstoff-Stärke-Malzextrakt (8bM) war niedriger als ohne Malzzusatz (vergl. dazu Tab. 3, NL 5b und 5bM und Tab. 4, NL 6b und 6bM).

Die in beiden Versuchsreihen (1. mit NL 3 bis 4c und 2. mit NL 7 bis 8bM) ermittelte Unterlegenheit der Maltose gegenüber Stärke, wenn Asparagin oder Harnstoff als N-Quelle geboten werden, ist nicht ohne weiteres verständlich. Im allgemeinen entsteht Maltose als Spaltprodukt des enzymatischen Stärkeabbaues.

Wenn *M. canis* Stärke besser als Maltose verwerten kann, muß man annehmen, daß der Pilz in der Lage ist, die Stärke auf anderem Wege abzubauen. Dieser Frage soll in weiteren Untersuchungen nachgegangen werden.

Ebenso wie für die einfachen NL 1 bis 4 haben wir die $K_{ö}$ nach Goddard für die NL 5 bis 8 berechnet (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7

Ökonomische Koeffizienten

NL $K_{ö}$	NL $K_{ö}$	NL $K_{ö}$	NL $K_{ö}$	N-Quelle
5 : 1,2	6 : 1,2	7 : 2,3	8 : 2,3	Asparagin
5a : 2,6	6a : 2,1	7a : 2,8	8a : —	$(NH_4)_2SO_4$
5b : 2,6	6b : 3,2	7b : 3,3	8b : 2,1	Harnstoff
Glukose	Saccharose	Maltose	Lösl. Stärke	

(Erläuterungen im Text).

Ein Vergleich dieser $K_{ö}$ mit den in Tabelle 2 zusammengestellten $K_{ö}$ bekräftigt unsere Annahme, die $K_{ö}$ nur mit Vorbehalt als Weiser der Stoffwechselintensität zu bewerten.

Von verschiedenen Autoren wird mitgeteilt, daß pleomorph gewordene Dermatomyzeten-Stämme auf Substraten gedeihen können, zu deren Aufschluß die Ausgangs-Stämme nicht fähig waren (z. B. McVeigh et al. 1950, Robbins & Ma 1945, u. a. m.). Ohne hier auf das Problem der Pleomorphie näher einzugehen, seien einige mittels einer pleomorphen Subkultur unseres *M. canis*-Stammes erzielte Ergebnisse dargelegt. Nach mehrmonatiger Kultur auf NL-VK — im Abstand von 6 Wochen immer wieder auf frische NL-VK übertragen — resultierte der pleomorphe Stamm. Über die erworbenen Eigenschaften informiert Tabelle 8.

Tabelle 8

Die Stoffwechselleistungen des pleomorphen M. canis-Stammes.

NL		Versuchsvariante	pH der NL		TS	mg P in 1 K		P in % der TS
			A	E	mg/K	NL	TS	
5a	Pleomorph	Glukose	5,4	3,4	110	0,90	1,35	1,23
5a	Normal	$(NH_4)_2SO_4$	5,0	2,6	31	1,99	0,32	1,03
6b	Pleomorph	Saccharose	5,5	3,2	111	1,02	1,21	1,04
6b	Normal	Harnstoff	5,0	8,5	25	1,82	0,43	1,72
8a	Pleomorph	Lösl. Stärke	3,5	3,0	53	1,75	0,65	1,22
8a	Normal	$(NH_4)_2SO_4$	3,1	3,1	9	1,91	0,34	3,78

(Erläuterungen im Text).

Der pleomorphe Stamm konnte in Verbindung mit Glukose oder lösl. Stärke Ammoniumsulfat als N-Quelle ausnutzen, und außerdem war er nunmehr in der Lage, Saccharose als KH-Quelle zu verwerten.

Zur Orientierung über den Stickstoff-Einbau wurde schließlich noch bei einem Teil der Versuchsvarianten der N-Gehalt des Myzels und der NL bestimmt, um daraus die N-Bilanzen zu berechnen. In Tabelle 9 sind die Ergebnisse zusammengestellt.

Tabelle 9

Der Einfluß verschiedener KH- und N-Quellen auf die Stickstoffbilanz

NL	Versuchsvariante	mg N/K		N in % der TS
		NL	TS	
5	Glukose, Asparagin	1,7	7,5	5,4
5a	Glukose, $(NH_4)_2SO_4$	5,7	1,7	5,5
5b	Glukose, Harnstoff	2,2	5,2	4,5
5aM	Glukose, Malzextrakt, $(NH_4)_2SO_4$	5,6	1,4	5,2
5bM	Glukose, Malzextrakt, Harnstoff	1,9	5,4	5,0
6	Saccharose, Asparagin	5,1	2,3	5,1
6a	Saccharose, $(NH_4)_2SO_4$	6,0	1,6	5,9
6b	Saccharose, Harnstoff	6,0	1,0	3,8
7	Maltose, Asparagin	4,9	2,1	7,8
7b	Maltose, Harnstoff	6,5	0,9	5,2
8	Lösl. Stärke, Asparagin	5,2	1,9	4,8
8a	Lösl. Stärke, $(NH_4)_2SO_4$	6,6	0,4	4,6
8b	Lösl. Stärke, Harnstoff	—	3,5	3,8
8M	Lösl. Stärke, Malzextrakt, Asparagin	4,6	2,7	5,0
8aM	Lösl. Stärke, Malzextrakt, $(NH_4)_2SO_4$	6,6	0,6	7,6
8bM	Lösl. Stärke, Malzextrakt, Harnstoff	—	1,2	3,7

Erläuterungen: Bezüglich der Abkürzungen siehe Tabelle 1 und Tabelle 3.

Stickstoff (N) zählt mit C, H, O und P zu den Hauptelementen für den Aufbau der TS. Prozentische N-Werte haben ebenso wie in gleicher Weise dargestellte P-Gehaltsangaben nur einen begrenzten Aussagewert, weil für die einzelne Pilzart kein spezifisches N-„ während des Durchlaufens der Wachstumsphasen

besteht. *M. canis* kann z. B. während eines Entwicklungszyklus folgende N-Prozente bezogen auf die TS haben: (NL 5)

N in % der TS:	8,0	6,8	6,5	5,2	5,2	4,2
N mg/l Myzel:	1,1	2,1	4,9	5,3	4,8	4,2
Versuchstag:	8	12	16	21	27	36

Dagegen vermitteln die absoluten N-Bilanz-Zahlen ein eindrucksvolleres Bild vom Stickstoff-Haushalt des Pilzes und ermöglichen einen sicheren Vergleich der Verwertbarkeit der verschiedenen N-Quellen. Der N-Einbau ist von der eingesetzten N- und KH-Verbindung abhängig. Asparagin eignet sich in jedem Falle — also auch in Kombination mit „ungünstigen" KH — am besten als N-Quelle. Harnstoff führt zusammen mit Glukose oder lösl. Stärke zu ähnlichen Ergebnissen. Die N-Assimilation des Pilzes fällt aber ab, wenn Harnstoff mit Saccharose oder Maltose eingesetzt wird. Ammoniumsulfat kann kaum für den Aufbau der N-Verbindungen verwendet werden.

Diskussion

Im Zusammenhang mit anderen von uns in Angriff genommenen Problemen der Biologie hautpathogener Pilze haben wir die vorliegenden ernährungsphysiologischen Untersuchungen ausgeführt. Publikationen mit ähnlicher Fragestellung liegen bereits vereinzelt vor. Viele Fragen der Stoffwechselphysiologie der Dermatomyzeten harren aber noch ihrer Bearbeitung und Klärung.

Wir bestimmen neben der Trockensubstanzproduktion die P- und N-Bilanzen, die KH-Resorption oder auch den ökonomischen Koeffizienten und die pH-Veränderungen in der Nährlösung. Aus den Ergebnissen unserer Versuche leiten wir ab, daß *M. canis* auf einer glukosehaltigen Nährlösung definierter Zusammensetzung am besten gedeiht. In diesem Zusammenhang verdient die Arbeit Berestons u. Mitarbeiter (1958) besondere Beachtung. Die Verfasser forderten quantitative Methoden für die Beurteilung der Ernährungsbedürfnisse des Pilzes *M. canis*. Die von ihnen verwendete Basis-Nährlösung war durch Mikronährstoffe erweitert. Die Hauptnährstoffe lagen in wesentlich höheren Konzentrationen vor als in unseren NL. Bereston variierte die N-Quelle (diverse Aminosäuren usw., stets 1,4 g/l) und untersuchte die Einzelwirkung der N-Verbindungen (KH-Quelle dabei Glukose), ohne Rücksicht auf ihren N-Gehalt. Aber bei gleicher Einwaage enthält z. B. Asparagin ungefähr doppelt soviel N wie Asparaginsäure. Wir vergleichen hingegen immer die Wirkung N-äquimolarer Lösungen. Für die TS-Bestimmung wandte Bereston die von Nickerson (1946) empfohlene Methode an. Die Pilzkultur wird dazu im Autoklaven abgetötet und anschließend der Agar durch heißes Wasser herausgelöst, der Rückstand getrocknet und gewogen. Wir bezweifeln, ob bei dieser Prozedur wirklich keine TS-Verluste entstehen. Bereston fand für die Glukose-Asparagin-Variante eine TS-Ausbeute von 35 mg, unsere korrespondierenden Werte liegen bei 100 mg. Im Gegensatz zu unseren Befunden stellte Bereston fest, daß sich Ammoniumsulfat ebenso gut als N-Quelle eignet wie Asparagin. Lediglich bei unserer pleomorphen *M. canis*-Subkultur konnten wir das gleiche beobachten. Durch Zusatz des B-Vitamine-Komplex erzielte Bereston keine Stimulation. Wir erreichten im Falle der Glukose-Harnstoff-Kombination durch BVK eine gesicherte TS-Zunahme. Immerhin konnte Bereston nachweisen, welche Aminosäuren besonders gut von *M. canis* assimiliert werden und welche als N-Quelle nicht geeignet sind.

Ebenso wie Bodin (1899), Goddard (l.c.) und Giblett et al. (1950) fanden wir, daß Saccharose als KH-Quelle für *M. canis* unzureichend ist. Die mit Maltose von uns erzielten Wachstumsresultate stehen im Widerspruch zu den Angaben einiger anderer Autoren (z. B. Goddard l.c.), allerdings setzten wir Maltose nur kombiniert mit Asparagin, Harnstoff oder Ammoniumsulfat und nicht zusammen mit Pepton ein. An sich wäre zu erwarten, daß *M. canis* Maltose gut verwerten kann, denn Tate (1929) konnte bei seinen umfangreichen enzymatischen Studien bei diesem Pilz eine aktive Endomaltase neben Amylase nachweisen. Lösliche Stärke eignete sich als KH-Quelle und war dabei die Maltose weit überlegen. Die daraus abzuleitende Vermutung, daß *M. canis* Stärke nicht über die Maltose-Zwischenstufe abbaut, soll durch weitere Untersuchungen geklärt werden. Ferner wurden die ökonomischen Koeffizienten ($K_{\ddot{o}}$; Tab. 2 und 7) der einzelnen Versuchsvarianten berechnet und ihre Abhängigkeit von der eingesetzten KH- und N-Quelle nachgewiesen. Der $K_{\ddot{o}}$ kann nur mit Vorbehalt und im Zusammenhang mit anderen Versuchskriterien als Weiser der Stoffwechselintensität des Pilzes herangezogen werden.

Interessanter für die Charakterisierung des Stoffwechseltyps (intensiv, anspruchsvoll usw.) sind die P-Bilanzen. Das P-Angebot in unseren NL war bei weitem nicht so hoch wie sonst allgemein üblich in NL für Dermatomyzeten. Es ergab sich zwar eine von der P-Konzentration in der NL abhängige P-Aufnahme durch die wachsenden Myzelien, aber der relativ hohe P-Gehalt in den Rest-NL bestätigt, daß wir mit *M. canis* einen Vertreter jener Gruppe von Organismen vor uns haben, die sich bezüglich des Nährstoffbedarfs bereits spezialisiert haben. Die N-Bilanzen ergänzen unsere bisherigen Ausführungen. Wie bereits dargelegt, vermitteln in Prozent der TS angegebene N-Werte nur ein unvollständiges Bild von der Intensität des N-Stoffwechsels und von der Eignung verschiedener Verbindungen als N-Quelle zu dienen. Ein typisches Stickstoff-Prozent (N-%) für die einzelne Pilzart kann nicht angegeben werden, da die N-Assimilation von der N- und KH-Quelle bestimmt wird und da während des Durchlaufens der Wachstumsphasen der prozentische N-Gehalt stetig abnimmt, hingegen der absolute N-Gehalt bis zum Beginn der Autolyse ansteigt, um dann, da N-Verbindungen ausgeschieden werden, ebenfalls geringer zu werden.

Der pH-Wert wird in erster Linie bei unseren Versuchen durch die N-Quelle, die Pufferkapazität der NL und die Wachstumsphase des Pilzes (vergl. Abb. 1) festgelegt. Aus den vorliegenden und anderen Untersuchungen leiten wir die Beziehung ab, daß $pH_E < pH_A$ ein Hinweis für weitgehend abgeschlossenes Wachstum unter den Bedingungen unserer NL ist. Unabhängig vom pH_A erfüllten alle Versuchsvarianten dieses Postulat. Eine vorübergehende Veränderung des pH_{NL} ist den Pilzen durch enzymatisch gesteuerte Reaktionen möglich (Tate 1929, Bentley 1953). Nach Daniels (1953) ist mit einer hohen Anfangsaktivität der Ektoenzyme zum Substrataufschluß zu rechnen. Durch Vitaminzugaben wird der pH-Wert nur indirekt beeinflußt, was davon abhängig ist, inwieweit diese Vitamine stoffwechselanregend wirken.

In Übereinstimmung mit anderen Autoren (z. B. McVeigh u. Campbell; Robbins u. Ma l.c.) fanden wir, daß eine pleomorphe Subkultur unseres *M. canis*-Stammes sowohl Saccharose in Verbindung mit Harnstoff als auch Glukose und lösliche Stärke zusammen mit Ammoniumsulfat als Hauptnährstoffkombinationen verwerten kann.

Aus den Ergebnissen unserer Versuche ergibt sich ein klar umrissenes Bild von den Ansprüchen und der Stoffwechselaktivität des Dermatomyzeten *Microsporon*

canis. Darauf basierend sollen in weiteren Arbeiten die Ursachen der unterschiedlichen Verwertbarkeit der KH- und N-Quellen mittels detaillierter Untersuchungen und enzymkinetischer Studien einer Klärung näher gebracht werden.

Zusammenfassung

1. Mit *Microsporon canis* sind ernährungsphysiologische Untersuchungen ausgeführt worden, um die Verwertbarkeit verschiedener Kohlenhydrate- und Stickstoff-Quellen für den Aufbau- und Erhaltungsstoffwechsel zu bestimmen.
2. Der Pilz läßt sich auf einem definierten Substrat, dessen Komponenten in jeder Versuchsphase quantitativ erfaßt werden können, in einem für stoffwechselphysiologische Versuche erforderlichen Ausmaß gut kultivieren (NL 5, 5b, 8b).
3. Das Nährstoffangebot, in der Höhe der von uns gewählten molaren, relativ niedrigen Konzentrationen, ermöglicht in Verbindung mit dem BVK-Zusatz und einigen Mikronährstoffen dem Pilz ein vollständiges Durchlaufen der Wachstumsphasen (Abb. 1).
4. Mit 1- bis 2 %iger Malzlösung werden keine besseren Ergebnisse erzielt.
5. In der Reihe der KH-Quellen führt Glukose gefolgt von der löslichen Stärke. Weniger geeignet sind Maltose und Saccharose.
6. Von den eingesetzten N-Verbindungen kann der Pilz Asparagin und Harnstoff zusammen mit den gut verwertbaren KH nutzen. Ammoniumsulfat ist ungeeignet.
7. Die auffallend unterschiedlichen Wachstumsleistungen mit Stärke (gut) und mit Maltose (schlecht) in Kombination mit Asparagin oder Harnstoff werden als von der N-Quelle abhängiges endoenzymatisches Problem zur Diskussion gestellt.
8. Der ökonomische Koeffizient ($K_Ö$: g KH Verbrauch/g TS) ist ermittelt worden. Der $K_Ö$ kann nur mit Vorbehalt und unter Berücksichtigung aller Wachstumsfaktoren als Maß der Stoffwechsel-Intensität herangezogen werden.
9. Die Bestimmung des Stickstoffgehaltes der Myzelien und der NL orientiert über die Intensität der N-Assimilation des wachsenden Pilzes. Das Ausmaß des N-Einbaues wird durch die KH-Quelle beeinflußt.
10. Mittels der P-Bilanzen (Rest-P in der NL und P-Gehalt der Myzelien) wird der Stoffwechseltyp des Pilzes charakterisiert.
11. Der pH-Wert der Substrate wird in erster Linie bei unseren NL durch die N-Quellen festgelegt. Der pH-Wert beeinflußt indirekt die P-Resorption.
12. Die Beziehung $pH_A > pH_E$ kann unter den Bedingungen unserer NL als Weiser für weitgehend abgeschlossenes Wachstum herangezogen werden.
13. Eine pleomorphe Subkultur unseres *M. canis*-Stammes ist in der Lage, das sonst ungeeignete Ammoniumsulfat zusammen mit Glukose oder Stärke und Saccharose in Kombination mit Harnstoff als vollwertige N- bzw. KH-Quelle zu nutzen.

Frl. I. K l i n k e und Frau H. R i c h t e r danken wir für verständnisvolle technische Assistenz.

Summary

1. With *Microsporon canis* a study was made concerning the nutritional and physiological behavior of the fungus, with a view to determine the utilization of various carbohydrate and protein sources in growth and upkeep.

2. Proper development, sufficient for metabolic tests, takes place in a well-defined medium whose constituents are measurable in every stage of the experiment (nutritive-solution [NL] 5, 5b, 8b).
3. The supply of nutrients, by way of the proposed molar (relatively low) concentrations with the addition of BVK and some nutritive substances in minute quantities, enables the fungus to run its full cycle of development (fig. 1).
4. With 1 to 2 % solutions of maltextract no better results were obtained.
5. Among the sources of carbohydrates glucose ranks first, followed by soluble starch. Less suitable are maltose and saccharose.
6. Of the nitrogen compounds which were tested asparagin as well as urea are being utilized by the fungus, together with the well absorbed carbohydrates. Ammonium sulfate is not suitable.
7. The remarkable differences of growth with starch (good) and maltose (poor) in combination with asparagin and urea have to be discussed as an endo-enzymatic problem, dependent from the nitrogen source.
8. The economic coefficient (K_E: g carbohydrate consumption/g dry weight has been determined. The K_E factor can be used as an indicator of the intensity of metabolism only with reserve and evaluation of all growth factors.
9. By measuring the nitrogen content of the mycelia and of the NL information regarding the extent of N-assimilation of the growing fungus can be obtained. The degree of N-assorption depends on the carbohydrate source.
10. By means of the P-balance (residual phosphorus in the NL and P-content of the mycelium) the metabolic type of the fungus can be defined.
11. The pH value of the media in our NL is mainly determined by the nitrogen source. Indirectly the absorption of P depends on the pH value.
12. Among our NL the relation $pH_A > pH_E$ may be applied as an indicator for the almost terminated course of development.
13. A pleomorphic subculture of our strain of *M canis* was found to be able to utilize ammonium sulfate — which is otherwise unsuitable — together with glucose or starch and saccharose in combination with urea as a wholly adequate source of nitrogen and/or carbohydrate.

Literatur

1. Bentley, M. L.: J. gen. microbiol. **8**, 365—377 (1953). — 2. Bereston, E. S., H. M. Robinson, S. A. Williams: J. Invest. Derm. **30**, 63—67 (1958). — 3. Bodin, E.: Arch. de parasit. **2**, 362—374 (1899). — 4. Böhme, H. und Ziegler, H.: Mykosen **3**, 57—69 (1960). — 5. Burkholder, P. R. und Moyer, D.: Büll. Torr. Bot. Club 70, 372—377 (1943). — 6. Daniels, G.: J. gen. microbiol. **8**, 289—294 (1953). — 7. Georg, L. K.: Mycologia **43**, 297—309 (1951). — 8. Gibblett, E. R. und B. S. Hanoy: J. invest. Derm. **14**, 377—386 (1950). — 9. Goddard, D. R.: J. infect. Dis. **54**, 149—158 (1934). — 10. Humfeld, H. und T. F. Sugihara: Mycologia **44**, 605—620 (1952). — 11. Kaden, R.: Mykosen **1**, 3—38 (1957/1958). — 12. Langen, P. und E. Liss: Biochem. Z. **330**, 455—466 (1958). — 13. Lyr, H. und H. Ziegler: Phytopath. Z. **35**, 173—200 (1959a). — 14. Lyr, H. und H. Ziegler: Phytopath. Z. **36**, 146—162 (1959b). — 15. McVeigh, I. und F. Campbell: Mycologia **42**, 451—469 (1950). — 16. Nickerson, W. J. und Mitarb.: Biology of pathogenic fungi. Chronica botanica Comp. Massachusetts (1947). — 17. Robbins, W. J. und R. Ma: Am. J. Bot. **32**, 509—523 (1945). — 18. Silva, M. und R. W. Benham: J. invest. Derm. **18**, 453—472 (1952). — 19. Stockdale, P. M.: J. gen. microbiol. **8**, 434—441 (1953). — 20. Sumner, J. B. und G. F. Somers: Laboratory experiments in biological chemistry. New York (1949). — 21. Swartz, J. H. in „Medical Mycology" (Editor R. D. G. H. Simons) Amsterdam Houston New York London (1954). — 22. Tate, P.: Parasitology **21**, 31—54 (1929). — 23. Ziegler, H.: Biol. Zentralblatt **76**, 43—69 (1957). — 24. Ziegler, H.: Mykosen **4**, 19—28 (1961).

Anschr. d. Verf. Dr. Helmut Ziegler, Berlin N 4, Hautklinik der Charité, Schumannstr. 21

Das Verhalten einiger Dermatophyten bei Begasung mit Äthylenoxyd (T-Gas)

Von E.-M. LIEBRECHT

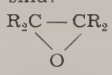
Aus der Univ.-Hautklinik Göttingen
(Direktor: Prof. Dr. H.-G. Bode)

Durch die Einführung von gasförmigem Äthylenoxyd in die Sterilisiertechnik 1928 (Cotton und Roark) wurde es möglich, auch thermolabile Lebensmittel (Literatur bei Neumann 1959), Bücher, Kunststoffbehälter oder Catgut als chirurgisches Nahtmaterial (Heicken und Bellinger 1960) zu entkeimen. Im Laufe der Jahre ist bereits mehrfach die Dosierung von Gasmenge, -einwirkungszeit und -druck untersucht worden, die nötig ist, sporenbildende sowie nicht sporenbildende Mikroorganismen abzutöten. Nach Rauscher, Mayr und Kaemmerer (1956) gehen Schimmelpilzsporen bereits bei 6stündigen Gaben von 150—200 g Äthylenoxyd/cbm zugrunde, während man bei Bakterien 250 g/cbm benötigt. Proteus geht bei 750 g/cbm zugrunde; mit sicherer Abtötung von Bacillussporen rechnet man erst bei 1200 g/cbm.

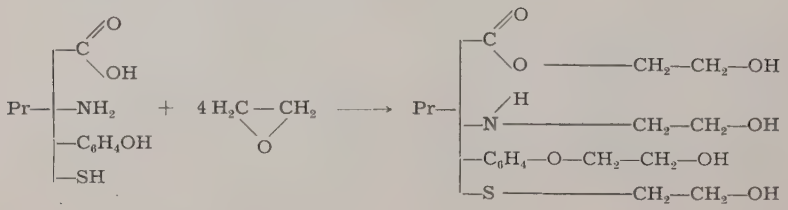
Es erscheint nun wissenswert, wie sich die Dermatophyten verhalten und welche Minimaldosen an Äthylenoxyd ausreichen, um ein Auskeimen zu verhindern. Da diese Grundlagenforschung dazu dienen soll, Anhaltspunkte für eine zukünftige Begasung zur Vermeidung von Reinfektionen durch Schuhwerk, Strümpfe, Handschuhe und andere Wäschestücke aus der Behandlung entlassener Patienten zu gewinnen, wurden die Versuche nicht nur mit Agarkulturen, sondern auch mit Leder- und Stoffstückchen unternommen.

Das Äthylenoxyd-Gas wird von den verschiedenen Verfassern in unterschiedlicher Mischung mit anderen Gasen benutzt. Da es brennbar ist und mit Sauerstoff explosiv wirkt, gibt man ein reaktionsträges Gas hinzu, meist Kohlensäure. Das gebräuchlichste Mischungsverhältnis besteht aus 90 % Äthylenoxyd und 10 % Kohlensäure und wird T-Gas genannt. Es wird in Druckflaschen in flüssiger Form verwendet. Im umgekehrten Verhältnis, also 10 % Äthylenoxyd und 90 % Kohlensäure, kommt das Gas als *Cartox* oder *Carboxide* hauptsächlich in den USA in den Handel. Bei diesen Gasgemischen besteht keinerlei Explosionsgefahr. Andernfalls kann die Entzündbarkeit noch durch die Herabsetzung des Druckes auf 40 Torr (Heicken und Bellinger 1960) aufgehoben werden.

Chemisch gehört das Äthylenoxyd zu den Epoxyden, die durch einen spannungsreichen Dreierring gekennzeichnet sind:



Die keimtötende Wirkung beruht nach Fraenkel-Conrat (1944) auf einer Reaktion mit Proteinen, wobei sich Epoxyde mit funktionellen Gruppen in den Seitenkettenresten der Proteine (Pr) bilden:



Es handelt sich um eine irreversible Denaturierung der Proteine. Durch die außerordentlich große Reaktionsfähigkeit des Äthylenoxyds der Proteine einerseits und die hohe Zahl solcher funktioneller Gruppen andererseits erklärt sich das große Wirkungsspektrum des Äthylenoxyds gegenüber Mikroorganismen (Überblick bei Heicken und Bellinger 1960).

Über die Toxizität des Äthylenoxyds ist zu sagen, daß der Mensch 100 mg/cbm Luft 8 Stdn. lang verträgt bei Reizung von Augen- und Nasenschleimhäuten. Aber auch bei 125 mg/cbm Luft kann er notfalls mehrere Stdn. lang arbeiten, ohne Schaden zu nehmen. Verbrennungserscheinungen der Haut und Schleimhäute werden lediglich durch flüssiges Äthylenoxyd und dessen wäßrige Lösungen oder durch ungenügend belüftete Gummi- und Ledergegenstände hervorgerufen.

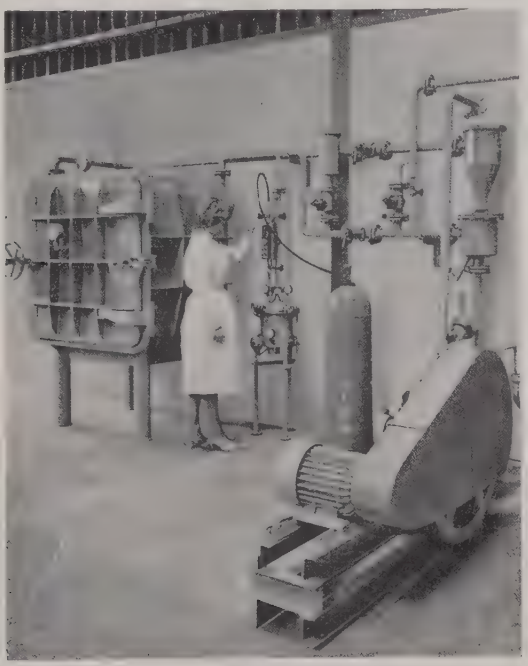


Abb. 1. Degesch-Kreislaufsystem

Die Begasung des Sterilisiergutes (Abb. 1)*) erfolgt in einem Sonderraum, der in der Hauptsache die T-Gas-Bombe, eine Pumpe, eine Begasungskammer von 1 cbm Inhalt, ein Lüftungsrohr und ein Frischluftfilter enthält. Ein elektrisch beheiztes Wasserbad wärmt das in einen Verdampfer austretende flüssige T-Gas vor der Begasungskammer auf ca. 40—60° an. Sodann strömt das Gas in die Begasungskammer ein, in der nach Einbringen des Sterilisiergutes ein Vakuum hergestellt worden ist. Durch Umwälzen dringt das Gas an alle Oberflächen

*) Die Membranfilter-Gesellschaft Göttingen stellte freundlicherweise ihre Degesch-Einrichtung zur Verfügung. Für Kliniken ist neuerdings ein wesentlich moderneres und kleineres Gerät im Handel, das mit 300 l Fassungsvermögen allen Anforderungen entspricht, kompendiös ist und für das ein besonderer Raum nicht erforderlich ist.

heran. Nach dem Einströmen läßt man das T-Gas eine bestimmte Zeit lang einwirken. Anschließend wird durch mehrmaliges Herstellen eines Vakuums und Wiederauffüllen der Kammer mit gefilterter Frischluft das Gas vollkommen entfernt und in die Atmosphäre abgegeben. Dort wird es durch sofortige Verdünnung unschädlich.

Material und Methode

Untersucht wurden aus der Fadenpilzgruppe die beiden häufigsten Dermatophyten Trichophyton mentagrophytes (M) und Tr. rubrum (R) sowie von den Sproßpilzen der pathogene Vertreter Candida albicans (C): in allen drei Fällen aus Patientenmaterial isolierte Stämme. Die Testorganismen wurden vor jedem Begasungsversuch auf Nähragar (4 % Malz, 1 % Pepton, 2 % Agar) bzw. auf Leder- oder Stoffstückchen (festes Baumwollgewebe) sieben Tage lang bei Zimmertemperatur im Dunkeln gezogen. Unmittelbar vor der Gasgabe, die in den folgenden Ausführungen stets auf 1 cbm zu beziehen ist (bei ca. 25°, 720—740 mm Hg-Unterdruck und 90prozentiger relativer Luftfeuchtigkeit), wurde der Durchmesser der Kolonien in cm gemessen. Weitere Revisionen der Kolonie-Durchmesser schlossen sich eine und zwei (z. T. auch noch drei) Wochen danach an. Leder- und Stoffteile lagen als Rechtecke von 1 : 2 cm, beimpft mit je 1 mm^3 Pilzmaterial, zu je 4 in einer sterilen Petrischale und wurden nach der Begasung auf neuen Schalen mit Nähragar derart in der Schalenmitte abgeimpft, daß das Pilzmaterial zum größten Teil auf dem Agar hängenblieb. — Bei vergleichenden analogen Untersuchungen mit feuchten Kammern lagen Leder- und Stoffteile auf einer Unterlage von sterilen Glasstäbchen in den Petrischalen und kamen nach der Begasung in gleicher Weise auf Agar zum Ausstrich; oder sie wurden sofort auf feuchten Agar gelegt, dort begast und anschließend gewendet und abgestrichen. Gemessen wurde auch hier der Durchmesser der entstehenden Pilzkolonie.

Außerdem wurde bei einigen Versuchen die Konidienbildung auf Agarblöckchen geprüft (K a d e n 1954).

Als Kontrollen dienten jeweils die entsprechend bestückten unbegasten Versuchsschalen. Ebenso wie die Vorzuchten wurden sämtliche Versuchsschalen bei Zimmertemperatur im Dunkeln gehalten. Jedes Ergebnis wurde durch fünf Parallelschalen und eine oder mehrere Wiederholungen des Versuches sichergestellt.

Versuchsergebnisse

Einige Vorversuche ergaben zunächst, daß sich die Begasung auf Pilzkolonien in offenen und geschlossenen Schalen nicht merklich unterschied. Alle Versuchsschalen blieben daher aus Sterilitätsgründen mit Deckeln versehen. Um Störungen durch Feuchtigkeitseinflüsse auch innerhalb der Versuchsschalen zu prüfen, wurden in den geschlossenen Schalen unterschiedliche Feuchtigkeitsverhältnisse geschaffen. Einmal hielten wir Leder und Stoff selbst feucht und verglichen mit Kolonien, die auf trockenen Stückchen gewachsen und begast und wieder davon abgeimpft waren.

In einer zweiten Versuchsreihe legten wir die trockenen Materialien mit Hilfe von Glasstäbchen auf feuchtes bzw. trockenes Filtrierpapier in die Versuchsschalen, beimpften dort und führten die Untersuchung analog der ersten zu Ende.

Schließlich wurden noch Leder- und Stoffteile direkt auf Agar gelegt, begast und dann auf denselben Nährboden abgeimpft, nachdem die Leder- und Stoffstücke entfernt worden waren.

Die Unterschiede im Feuchtigkeitsmilieu der Petrischalen spielten jedoch keine Rolle für das Eindringen des Gases in das Versuchsgut; jedenfalls wurde keine Abweichung vom normalen Kolonie-Durchmesser der Pilzkulturen gefunden.

Über die Rolle der Feuchtigkeit bei der Äthylenoxyd-Sterilisation herrschen verschiedene Ansichten. K a y e und P h i l l i p s (1949) kamen zu dem Ergebnis, daß die Wirkung von Äthylenoxyd von einem bestimmten Feuchtigkeitsgrad an, der jedoch nicht unterschritten werden darf, umso größer wird, je trockner die Atmosphäre und das Sterilisiergut sind. Nach L l o y d u n d T h o m p s e n gelten relative Feuchten von 30—50 % als optimal; bei 60 % soll die Grenze liegen. G r o s s und D i x o n (1933) vertreten die Ansicht, daß erst ein Feuchtigkeitsfilm am Sterilisiergut 100proz. Entkeimung gewährleistet, da sich das Äthylenoxyd in diesem Oberflächenwasser löst und giftiges Glykol erzeugt. Glykol hat aber allein bakterizide, keine sporizide Wirkung, so daß die in der Einleitung gegebene Theorie von F r a e n k e l - C o n r a t über den Wirkungsmechanismus des Äthylenoxyds vorläufig als die richtigere angesehen werden darf.

Auf die Funktion des Äthylenoxyds bei der Catgut-Sterilisation (begrenzt quellbares Gel) sei hier nur am Rande verwiesen (H e i c k e n und B e l l i n g e r 1960). Mit ansteigendem Quellungsgrad des Catguts nimmt die Sterilisiergeschwindigkeit außerordentlich stark zu: Bei 10proz. relativer Feuchtigkeit wird erst innerhalb von 8 Stdn. Keimfreiheit erreicht, bei 30 % bereits nach 30 Min., bei 40 % nach 15 Min. Die schnelle Wirkung kann erst einsetzen, wenn die Adsorptionssättigung überschritten ist, denn dann liegt das Quellwasser in intermizellaren Flüsigkeitschichten im Faden vor (F r e u n d l i c h 1922).

Das vorliegende Sterilisiergut in Form von Pilzmyzel wurde bei einem relativen Feuchtigkeitsgehalt von ca. 90 % in der Begasungskammer behandelt, da sich diese Maßnahme bei Versuchen der Membranfilter-Gesellschaft als günstig erwiesen hatte.

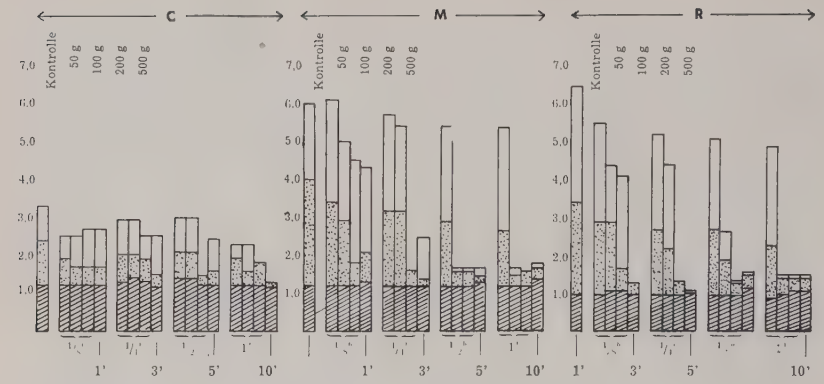
Als nächste Frage sollte die Menge des anzuwendenden Gases und auch dessen Einwirkungszeit für die drei Organismen geklärt werden. (Mit unterschiedlichem Druck wurde nicht gearbeitet, da die Begasung unkomplizierter und daher rentabler ist, wenn dafür längere Zeiteinheiten oder größere Dosen veranschlagt werden.)

Verschiedene T-Gas-Mengen bei Einwirkung von 4 Stdn.

In Vorversuchen, die zur Annäherung an den Abtötungspunkt unternommen wurden, erhielten sämtliche Schalen eine Gasgabe von 4 Stdn. Einwirkungszeit. Sowohl mit 1000 g T-Gas als auch mit 750 g und 500 g/cbm war keine Zunahme der Kolonie-Durchmesser mehr zu erkennen. Zuweilen trat sogar eine derartig starke Schädigung des Pilzmyzels ein, daß die etwa 1 cm messenden Kolonien durch die Begasung trocken und faltig wurden und bei weiteren Messungen infolge Schrumpfung einen 1—4 mm kleineren Durchmesser aufwiesen als kurz vor der Begasung.

500 g T-Gas bei verschiedenen Einwirkungszeiten.

In Versuchen mit 500 g T-Gas war nach 4-, 3- und 2stündiger Einwirkungszeit kein Wachstum festzustellen; erst bei Dosen von 1 Std. und weniger keimten die Pilzkolonien aus. Aus diesen Versuchen resultierte als obere Toxizitätsgrenze 200 g Std. Die obere Toxizitätsgrenze bildet den Übergang der Zone völliger Hemmung zur Zone mit geschädigtem Wachstum. 200 g/cbm/Std. war daher der Ausgangspunkt der Hauptreihe von Versuchen, die das Verhalten der Hautpilze bei niedrigeren Begasungszeiten und Gasmengen zeigen sollten. Eine 500 g-Reihe wurde angesetzt, um die Abtötungszeiten in Min. festzustellen. Gesucht wurde schließlich die untere Toxizitätsgrenze, die zwischen der Schädigungszone und der Zone mit normalem Wachstum liegt.



Ordinate: Angabe der Kolonie-Durchmesser in cm.
Abszisse: Begasungszeit in Stdn. (bei 500-g-Gaben in Min., siehe jeweils 4. Säule).
Einzelsäule: Kontrolle.

1. Säule: 50 g Gas/cbm.
2. Säule: 100 g Gas/cbm.
3. Säule: 200 g Gas/cbm.
4. Säule: 500 g Gas/cbm.

schraffierte Zone: Zunahme der Kolonie-Durchmesser in cm bis zur Begasung (1. Woche),
punktierte Zone: Zunahme der Kolonie-Durchmesser in cm bis zur 1. Revision (2. Woche),
freie Zone: Zunahme der Kolonie-Durchmesser in cm bis zur 2. Revision (3. Woche).

Abb. 2. Darstellung des Begasungsversuchs auf Agar mit Candida albicans (C), Trichophyton mentagrophytes (M) und Tr. rubrum (R)

Wie die Abb. 2 zeigt, war die Schädigung sowohl nach der 2. wie nach der 3. Revision bei 500 g und 10 Min. Dauer noch erheblich. Auch bei 5 Min. Begasung mit 500 g T-Gas war bei M und R kaum ein Wachstum des Kolonie-Durchmessers zu verzeichnen. 500 g, 3 Min. lang gegeben, hemmten nur R stark. C und M konnten sich besonders während der letzten Woche noch gut entwickeln.
Bei Betrachtung der 200 g-Diagramme fällt auf, daß bei M und R die Schädigung des Myzelwachstums erst bei Gaben von nicht mehr als 7,5 Min. (1/8 Std.) Begasungsdauer nachläßt, C aber noch bei 1stündiger Exposition relativ gutes Wachstum aufweist. Die 100 g-Säulen zeigen bei allen Organismen und allen Gasmengen dieses Versuchs schwaches bis gutes Wachstum. Bei den 50 g-Säulen ist offenbar die Grenze der schweren Schädigung unterschritten. Die Größe des Kontroll-Durchmessers wird allerdings auch hier nur bei 7,5minütiger Einwirkungsdauer für M erreicht.
Ebenso interessant wie der waagerechte Vergleich sind senkrechte Auswertungen der Diagrammsäulen. Im Grunde interessieren hier natürlich nur die punktierten und die freien Zonen, da sie den Zuwachs n a c h dem Gasstoß darstellen, während die schraffierten Zonen das ungehemmte Wachstum b i s zur Begasung angeben. C bleibt in bezug auf die Säulenhöhe auffällig hinter M und R zurück. Bei den Kontrollen von C, M und R verläuft das Wachstum in den beiden Wochen nach der Begasung recht kontinuierlich. Die beiden Säulenabschnitte sind daher fast gleich hoch. Bei vermehrter Begasung, sei es nun im Hinblick auf die Zeit oder in bezug auf die Menge, ist das durchaus nicht mehr der Fall. Überall sehen wir einen Abfall der punktierten Zone nach rechts, d. h. bei steigender Gasmenge, und einen noch steileren Abfall der freien Zone in derselben Richtung. — Bemer-

kenswert erscheint noch die Tatsache, daß durch die ½stündige 100 g-Gabe bei R innerhalb der Serie von fünf Parallelschalen krasse Unterschiede im Durchmesser auftraten (die gezeichnete Säule stellt einen Mittelwert dar). Der Übergang von der schwach schädigenden zur stark toxischen Wirkung liegt hier also nahe bei 100 g.

Die Annahme der Toxizitätsgrenze bei Gaben zwischen 50 und 100 g erhielt ihre Bestätigung durch die Prüfung der Konidienbildung von M und R mit Hilfe der Agarblock-Methode. Nach jeder Revision wurden aus je einer Parallelschale jeder Serie (außer C) des eben beschriebenen Hauptversuches 1 mm³ große Myzelstückchen entnommen, auf die 2 mm hohen Seitenflächen der 1 qcm großen Nährbodenblöckchen gebracht und mit einem sterilen Deckglas versehen. Das seitliche Auskeimen wurde täglich mikroskopisch beobachtet. Bei Entnahme von Material aus Versuchsschalen nach der ersten Revision bildeten nur die Kontrollen Makrokonidien. Erst bei Abimpfung zwei Wochen nach der Begasung traten auch bei dem Material von M und R, das 2 Stdn. lang und kürzer 50 g Gas ausgesetzt gewesen war, Konidien auf.

Zusammenfassung

Mit den pathogenen Hautpilzen Trichophyton mentagrophytes, Tr. rubrum und Candida albicans wurden Begasungsversuche mit T-Gas unternommen.

Zwecks Auffindung der oberen Toxizitätsgrenze, bei der die Pilzkolonien gerade noch wachsen, wurde bei gegebener Begasungszeit von 4 Stdn. die Höhe der Gasmenge und bei einer Gasdosis von 500 g/cbm die Dauer der Gaseinwirkung variiert. Diese obere Toxizitätsgrenze lag bei 200 g/Std.

Als untere Toxizitätsgrenze, bei der die Pilze gerade noch gehemmt wurden, ergaben die Versuche 50 g bei einer Einwirkungszeit von 7,5 Min.

Summary

Tests were made to study the effect of T-gas on the following pathogenic fungi: Trichophyton mentagrophytes, Tr. rubrum, and Candida albicans. In order to determine the upper level of toxicity, at which the fungus colonies are still able to grow, the concentration of gas was varied at a fixed exposure of 4 hrs. and correspondingly with a gas concentration of 500 gms cbm the time of exposure was modified. The upper level of toxicity was found to be 200 gms/hr. The lower level of toxicity at which the development of the fungi is still arrested was determined as 50 gms during an exposure of 7,5 min.

Herrn Sartorius, Direktor der Membranfilter-Gesellschaft Göttingen, danke ich an dieser Stelle für die Erlaubnis zur Benutzung der Degesch-Anlage. Für die Überwachung der Begasungsarbeiten und freundlichen Rat darf ich Herrn Dr. Thon herzlich danken.

Literatur

Cotton, R. T. und R. C. Roark, Indust. Engl. Chem. **20**, 805 (1928). — Fraenkel-Conrat, H., J. Biol. Chem. **154**, 227 (1944). — Freundlich, H., Kapillarchemie, Akad. Verlagsgesellsch. Lpg., S. 500 (1922). — Gross, P. M. und L. F. Dixon, US-Patent 2 075 845 (1933). — Heicken, K. und H. Bellinger, Zbl. Bakt. **179**, 113—140 (1960). — Kaden, R., Z. Hautkrh. **16**, 170—173 (1954). — Kaemmerer, E. und W. Hauck, Derm. Wschr. **141**, 297—301 (1960). — Llyod, A. S. u. E. L. Thompsen, Gaseous Sterilization with Ethylene Oxyde, Am. Sterilizer, Erie, Pennsylvania; zit. nach: Heicken und Bellinger (1960). — Rauscher, H., Mayr, G. und H. Kaemmerer, „Mitteilungen" für das Gärungsgewerbe in Wien 7/8 (1956). — Thon, D. und M. Neumann, Zbl. Bakt., II. Abt. **113**, 114—127 (1959).

Ein Überblick über die Rhinosporidiose

Von S. C. DESAI*)

The Mycology Section, Department of Dermatology and Venereology, K. E. M. Hospital and Seth G. S. Medical College, Parel, Bombay 12, India.

Die Rhinosporidiose ist charakterisiert durch chronische papillomatöse Veränderungen, die sich zumeist im vorderen Anteil der Nase befinden. Der Erreger ist ein Pilz, den man immer in den infizierten Partien nachweisen kann und der Rhinosporidium seeberi genannt wird.

Geschichtliche Entwicklung

Der erste Fall ist vermutlich von Malbran in Buenos Aires bei der Untersuchung eines Nasenpolypen im Jahre 1892 beobachtet worden. Der Erreger ist zuerst 1896 und nochmals 1900 von Seeber in Buenos Aires beschrieben worden. O'Kinealy aus Indien hat 1903 seine ersten Veröffentlichungen über die Rhinosporidiose gemacht. 1912 wies Seeber die Identität des R. kinealy und R. seeberi nach. Im Jahre 1923 lieferte Ashworth schließlich den Beweis für die Einordnung des Erregers in die Gruppe der Pilze. In der Folgezeit wurden mehrere klinische Abhandlungen in Indien veröffentlicht, und zwar Dhayagude (1941), Kurup (1931), Wright (1932), Tirumurty (1924), Kirckpatrick (1909), Cherian u. Satyanarayan (1949), Allen (1936), Mandlik (1937) und Purandare u. Deoras (1953).

Die Rhinosporidiose der Conjunctiven und des Tränensacks ist von Kirckpatrick (1909), Ingram (1910), Elles (1941) und Purandare u. Deoras (1953) beschrieben worden. Ein Fall von Rhinosporidiose, der zu einer Parotiscyste geführt hat, ist von Mahadevan (1952) veröffentlicht worden.

Die Rhinosporidiose der Haut und des Gesichtes ist von Forsyth (1933), des Gesichts und der Füße von Allen und Dave (1936) und des Stammes und der Extremitäten von Dhayagude (1941) abgehandelt worden. Dhayagude glaubt, daß die Hautveränderungen durch haematogene Aussaaten entstehen, obgleich ihm der Nachweis des Erregers im Blut nicht gelungen ist.

Die Rhinosporidiose an der Urethra und an der Glans penis haben Ingram (1910) und Dhayagude (1941) beschrieben.

Die Pathologie und Histologie der Erkrankung sind von Ashworth (1923) — er ordnete den Erreger ein — sowie von Karunaratne (1936) und Noronha (1933) studiert worden. Rajam u. Mitarb. (1955) haben eine sorgfältige histopathologische Arbeit zur Erforschung der Rhinosporidiose geliefert.

Die Rhinosporidiose beim Tier ist zuerst von Zschoke (1913) an Hand des Materials von einem Nasenpolypen eines Pferdes beschrieben worden. Ayyar (1925 u. 1932) und Rao (1938) haben Rhinosporidiose-Polypen bei Schweinen und bei einem Maulesel festgestellt. Die Erreger dieser Veränderungen gleichen morphologisch dem Rhinosporidium seeberi. 1936 stellten Ciferri, Redaelli und Scattizi fest, daß es sich bei der menschlichen und bei der tierischen Rhinosporidiose um eine und dieselbe Krankheit handelt.

---

*) Von R. Kaden, Hautklinik der F. U. Berlin, aus dem Englischen übersetzt und modifiziert.

Epidemiologie

Obgleich vereinzelte Fälle in der ganzen Welt beschrieben worden sind, ist die Erkrankung lediglich in Indien und Ceylon endemisch.

Vorkommen

Alter: Am häufigsten tritt die Erkrankung im 2.—4. Lebensjahrzehnt auf, obgleich keine Altersgruppe verschont bleibt. Es ist sehr schwer, den Beginn der Erkrankung festzustellen, da die Symptome jahrelang unbemerkt bestehen können. Der jüngste Patient unter dem Krankengut von P u r a n d a r e und D e o r a s (1953) war nur 7 Jahre alt.

Geschlecht:

Die meisten Fälle finden sich bei Männern. Bei Frauen ist die Erkrankung eine Seltenheit. Bisher sind lediglich 6 Fälle von Rhinosporidiose bei Frauen bekannt geworden.

Rasse:

Keine Rasse ist gegen eine Ansteckung immun, obgleich unter den Asiaten wegen der endemischen Verbreitung der Erkrankung in Indien die meisten Fälle bisher aufgetreten sind.

Beruf:

Die Landbevölkerung wird verhältnismäßig häufig befallen. Unter Flußtauchern, die mit der Hand Baggerarbeiten zu verrichten haben, ist die Erkrankung nach den Erfahrungen von M a n d l i k (1937) außerordentlich weit verbreitet. Man vermutet, daß bei den Menschen, die in stehenden Gewässern oder Teichen zu baden pflegen, die Infektionsgefahr besonders groß ist.

Klinische Symptome

Nase und Nasen-Rachenraum sind die Prädispositionsorte, da allein 90 % aller Fälle diese Lokalisation aufzuweisen haben. Man glaubt, daß diese Regionen besonders anfällig oder daß sie beim Baden oder Tauchen einer Infektion vermehrt ausgesetzt sind. Den Nasenraum, insbesondere das Vestibulum nasi, findet man am häufigsten befallen. Meistens hängen die Gewächse an einem Stiel. Es gibt auch festsitzende Formen, die sich bevorzugt an der Schleimhaut befinden und große Ähnlichkeit mit kleinen Papeln, Knötchen oder blattartigen Protuberanzen haben. Ihre Farbe ist gewöhnlich rosa oder rot. Auf ihrer Oberfläche sieht man zahlreiche graue oder weiße durchscheinende Punkte, die die reifen Sporangien des Erregers darstellen. Die größeren Gewächse sind polypenartig und bluten leicht bei der Berührung. Die gestielten Polypen sind mehr oder weniger beweglich und hängen entweder aus der Nase heraus oder wachsen in den Nasen-Rachenraum hinein, wo sie Atembehinderungen hervorrufen können (Abb.).

Eine Lokalisation der Tumoren im Larynx ist zwar möglich, aber ebenfalls sehr selten. Solche Bilder sind lediglich vier- oder fünfmal in Indien bisher zur Beobachtung gelangt. Die Beschwerden äußern sich in Heiserkeit und Anfällen von Atemnot und allgemeiner Kurzatmigkeit.

Bei Augenrhinosporidiose sind die Conjunctiven und der Tränensack befallen. Die Veränderungen können wie Condylomata acuminata aussehen und entweder symptomlos sein oder Tränenfluß oder Fremdkörpergefühl verursachen. Die Wucherungen am Auge bluten ebenfalls leicht bei der Berührung. Falls sich die

Gewächse im Tränensack lokalisiert haben, entwickelt sich eine weiche, fluktuierende Schwellung, die man in der Nähe des inneren Lidwinkels beobachten kann.

Rhinosporidiose. Polypöse Wucherungen an beiden Naseneingängen

Hautveränderungen sind sehr selten, lediglich 5 Fälle sind bisher beobachtet worden. Man unterscheidet 2 Typen:

1. warzenähnliche, papillomatöse, fest aufsitzende Tumoren um die Nase und im Gesicht und
2. subkutane disseminierte Knötchen, die später ulzerieren und auf der Haut zu wuchern pflegen.

Das Bild der subkutanen Dissemination ist bisher nur dreimal, und zwar von Allen (1936), Dhayagude (1951) und Rajam u. Mitarb. (1955) veröffentlicht worden. Rajam u. Mitarb. haben die haematogene Aussaat der Erreger bewiesen, nachdem sie von Dhayagude (1951) in den Fällen von allgemeiner Dissemination lediglich vermutet worden ist. In der Folgezeit haben Agrawal, Sharma u. Shrivastave (1959) ähnliche Befunde bei einem anderen Patienten mit systematisierter Rhinosporidiose erheben können. Agrawal u. Mitarb. (1959) wiesen die Erreger in der Leber, in den Nieren und in den Lungen nach. Auffälligerweise ließen sich in der Leber und in den Nieren keine entsprechenden entzündlichen Krankheitsveränderungen erkennen. Lediglich fanden sich in der Leber cirrhotische Prozesse und in den Lungen granulomatöse Knötchen, in denen mikroskopisch Riesenzellformationen um die Sporangien und Sporen beobachtet werden konnten.

Von papillomatösen Wucherungen in der Urethra und am Penis mit dem Nachweis von Sporangien im histologischen Schnitt haben an Hand von 2 Fällen bisher Ingram (1910) und Dhayagude (1941) berichtet. Das klinische Bild glich in diesen Fällen Condylomata acuminata, im Urin ließen sich jedoch niemals Erythrocyten nachweisen.

Ätiologie und Pathogenese

Lebenszyklus. In der ersten Entwicklungsphase handelt es sich bei dem Erreger um eine runde oder ovaläre Zelle von der Größe eines roten Blutkörperchens von 5—8μ mit einem Kern und einem klaren vakuoligen Cytoplasma, in dem sich kleine Kügelchen (Sphaerula) befinden. Der Erreger liegt für gewöhnlich frei im Bindegewebe. Gelegentlich ist er intrazellulär in einer phagozytierenden Zelle verborgen. Bei der Weiterentwicklung kommt es zur Ausbildung eines vollentwickelten Sporangiums mit vielen Sporen als Inhalt. Die Sporen nehmen allmählich an Größe zu und werden etwa 12μ im Durchmesser groß. Sie haben dann eine doppelte Membran als Hülle, einen Kern und Cytoplasma. Wenn der Erreger bis zu einem Durchmesser von 50—60μ gewachsen ist, beginnt sich der Kern in 2, 4, 8, 16, 32 und 64 kleine Kerne zu teilen. Eine dicke Zelluloseschicht befindet sich unter der Chitinschicht, wenn die Zelle ungefähr 100μ groß geworden ist. Nur an einer Stelle ist die Schicht unterbrochen, da dort die sogenannte Pore zur Entwicklung gelangt. Im Endstadium beherbergt das Sporangium etwa 16 000 Sporen und hat einen Durchmesser von 300—350μ.

Obgleich der Erreger nach den Studien von Ashworth für einen Pilz gehalten wird, sind alle Versuche, ihn auf Nährboden zu züchten oder Tiere damit zu infizieren, erfolglos verlaufen. Dhayagude (1941) führte auf verschiedenen Kulturmedien Wachstumsversuche durch, ohne irgendwelchen Erfolg damit zu haben.

Verschiedene Arten der Übertragungen sind diskutiert worden, ohne daß sich irgendeine als richtig erwiesen hätte. Direkte Infektionen von Mensch zu Mensch können ausgeschlossen werden, da es keinen authentischen Fall einer Familieninfektion gibt. Noronha (1933) und Mandlik (1937) nehmen eine Ausbreitung durch infiziertes Wasser in Teichen oder Flüssen an, da Menschen, die oft baden oder tauchen, bekanntlich häufiger befallen werden.

Vom primären Herd wird die Infektion vermutlich mit den Fingern oder Nägeln auf die umgebenden Gebiete verschleppt. Diese Ansicht vertreten Forsyth (1933), Ingram (1910), Kanunaratne (1936) und Tirumurty (1914). Dhayagude (1941) und Tirumurty (1914) nehmen an, daß sich eine lokale Streuung durch Ausbreitung auf dem Lymphwege erklären läßt. Gelegentlich kommt es zu einer haematogenen Streuung, auf die wenige Fälle generalisierter Hautveränderungen sowie zwei Fälle einer tödlich verlaufenen System-Rhinosporidiose hinweisen.

Diagnose

Die Diagnose läßt sich aus dem charakteristischen klinischen Bild, durch den mikroskopischen Nachweis der Sporen im Nasenschleim oder durch den histologischen Nachweis von Sporangien im erkrankten Gewebe stellen. Die Papillome sind charakteristisch genug, so daß ihr klinisches Bild auf die Diagnose hinweist. Differentialdiagnostisch kommen alle entzündlichen Granulome, wie sie bei der Syphilis, Tuberkulose, Leishmaniose und Lepra bekannt sind, sowie Rhinoskleром und Neubildungen wie Polypen, Haemangiome, Angiofibrome, Sarkome, Epitheliome und leukämische Tumoren in Frage.

Therapie

Die Gewächse sollen möglichst durch elektrische Kauterisation entfernt werden, um Streuungen der Sporen in das umgebende Gewebe zu verhindern, was bei Benutzung von Skalpell und Schere nicht zu vermeiden ist. Der Schnitt soll weit im Gesunden geführt und die Operationsfläche soll koaguliert werden.

Eine medikamentöse Behandlung ist im allgemeinen enttäuschend. Allen und Dave (1936) berichteten über einen günstigen Einfluß von Neostibosan-Injektionen bei einer Gesamtdosis von 2—4 g. Rajam u. Mitarb. (1955) haben weder mit Pentamidin-isothionat (aromatisches Diamidinderivat) noch mit Streptomycin und Penicillin irgendwelche Erfolge beobachten können. Eigene Versuche mit Griseofulvin, das bei einem Fall auf die Dauer von einem Monat verabfolgt worden ist, zeigten keinerlei therapeutische Effekte.

Literatur

Agrawal, S., Sharma, K. D. & Shrivastava, J. B.: Generalised Rhinosporidiosis with visceral-involvement-report of a case. A. M. A. Arch. Dermat. 80: 22—26 (1959). — Allen, F. R. W. K. and Dave, M.: The treatment of Rhinosporidiosis in man based on the study of 60 cases. Indian Med. Gaz., 71: 376—393 (1936). — Ashworth, J. H.: On Rhinosporidium Seeberi, with special reference to its sporulations and affinities. Trans. Roy. Soc. Edin., LIII, 301 (1923). — Ayyar, V. K.: Rhinosporidiosis in equines, Ind. Jour. Vet. Sci. and Animal Husbandry, 2: 49 (1932). — Cherian, P. V. and Satyanarayan, C.: Rhinosporidiosis. Ind. Jr. of Otolaryngology, 1: 15—19 (1949). — Dhayagude, R. G.: Unusual Rhinosporidial Infection in Man. Indian Med. Gaz., 76: 513—515 (1941). — Handbook of Tropical Dermatology and Medical Mycology, Editor R. D. G. Ph. Simons, Elsevier Press, 1953, pp. 1370—1385. — Ingram, A. C.: Rhinosporidium Kinealyi in unusual situations. Lancet, 2: 726 (1910). — Karunaratne, W. A. E.: The Pathology of Rhinosporidiosis. J. Path. & Bact., 42: 193—202 (1936). — Kurup, P. K.: Rhinosporidium Kinealyi Infection. Indian Med. Gaz., 66: 239—241 (1931). — Mahadevan, R.: A rare case of parotid salivary cyst due to Rhinosporidiosis. Ind. Jour. Surgery, 14: 1 (1952). —Mandlik, G. S.: A record of Rhinosporidial Polypi with some observation on the mode of infection. Indian Med. Gaz., 72: 143 (1937). —Purandare, N. M. and Deoras, S. M.: Rhinosporidiosis in Bombay. Indian Med. Sciences, 7: 602—609 (1953). — Rajam, R. V., Viswanathan, G. S., Rao, A. R., Rangiah, P. N. and Anguli, V. C.: Rhinosporidiosis — a study with report of a fatal case of systemic dissemination. Ind. Jn. Surgery 27, Nu. 4, 1—30, Dec. (1955). — Rao, M. A. N.: Rhinosporidiosis in Bovines in the Madras Presidency with a Discussion of the probable mode of infection. Jour. Vet. Sc. & Animal Husbandry, 8: 187—193 (1938). — Tirumurti, T. S.: Rhinosporidium Kinealyi. Practitioner 93: 704—719 (1914). — Tirumurti, T. S.: Rhinosporidium Kinealye in a Malabari woman. Lancet, 1: 802 (1924). — Wright, R. E.: Rhinosporidium Kinealyi of the Conjunctiva. Indian Med. Gaz., 57: 81—83 (1922).

Mein Dank gebührt dem Dekan der Medizinischen Fakultät für seine freundliche Unterstützung und Herrn Professor N. M. Purandare aus der Abteilung für Pathologie und Bakteriologie.

BEI DERMATOMYKOSEN · BERUFSDERMATOSEN · EKZEMEN

BENZODERM®

LÖSUNG
PUDER
SALBE
SEIFE

ARZNEIMITTELFABRIK HÜLS · DR. ALBIN HENSE · HÜLS-KREFELD

Ein einfaches Verfahren der routinemäßigen Diagnose der Aktinomykose: die Kultur der Aktinomyzeten

(Vorläufige Mitteilung)

Von Zs. HERPAY

Aus dem Mykologischen Institut der Universitäts-Hautklinik in Debrecen, Ungarn
(Vorstand: Prof. Dr. L. Szodoray)

In der Diagnostik der menschlichen Aktinomykose bedürfen noch zahlreiche Fragen der Klärung, so die Anschauungen über die Einheitlichkeit des Erregers, die Infektionsquelle, der exogene oder endogene Ursprung der verschieden lokalisierten aktinomykotischen Infekte und auch — wenn auch nicht in letzter Reihe — ein einfaches erfolgreiches Kulturverfahren der Aktinomyzeten zur routinemäßigen mykologischen Diagnostik.

Als Ursache der Aktinomykose wurden Pilze erstmalig von Langenbeck Davaine beschrieben; die Bezeichnung Actinomyces bovis stammt — nach botanischer Bestimmung des Erregers — von Harz (1877). Von Ponfick und Bostroem wurde 1890 ein identischer aerober Stamm isoliert, von Israel und Wolf 1891 hingegen ein anaerober Stamm, welchem von Kruse 1896 der Name Actinomyces Israeli gegeben wurde. In der Aetiologie der Aktinomykose wird auch in der Gegenwart sowohl den aeroben als auch den anaeroben Aktinomyzeten von vielen Forschern eine Rolle zugesprochen. Neuerdings wird von Bergey (1957) neben Actinomyces bovis und Actinomyces Israeli auch eine dritte Species: Actinomyces Baudetii (Brion, 1942) dem Genus Actinomyces zugezählt. Diese neue Species ist ebenfalls anaerob, sie wurde bei Erkrankungen von Hunden und Katzen gefunden; bis vor wenigen Jahren hielt man sie für identisch mit Actinomyces Israeli, doch unterscheidet sie sich von letzterer durch ihre basische Färbarkeit.

Was die Infektionsquelle anbelangt, so kommen insbesonders bei landwirtschaftlich Beschäftigten als exogene Quellen verschiedene Pflanzen (Gräser, Getreide, Granen) in Frage. Nach den Befunden Naeslund's kommen in kariösen menschlichen Zähnen, nach Emmons in den Lakunen der Tonsillen anaerobe Aktinomyzeten vor; auch Actinomyces Israeli ist isoliert worden, was die Möglichkeit endogener Infektionen ins Blickfeld rückt.

Unter den Krankheitsbildern der Aktinomykose ist die cervico-faciale Lokalisation die häufigste (55—57 %). Der Prozeß kann von kariösen Zähnen oder den Lakunen der Tonsillen ausgehen, seltener von den Ausführungsgängen der Speicheldrüsen. Seltener wird die Aktinomykose der Bauchorgane, Genitalien, des Skelets sowie des Gehirns beobachtet.

Sich einzig und allein auf die klinische Symptomatologie stützend, kann die Diagnose nicht mit Sicherheit gestellt werden. Ebensowenig ist der Nachweis des Erregers für sich allein beweisend, da nach Schürmann an der menschlichen Haut auch saprophytäre Aktinomyzeten leben. Mehr beweisend sind Drusen sowie Fadenfragmente im Eiter, die sich nach Gram färben lassen; ebenso der histologische Befund nach der von Brown-Benn modifizierten Gram-Färbung. Die negativen Kulturergebnisse können nicht als Gegenbeweis gewertet werden, da Drusen und Pilze nicht in jeder Phase der Krankheit im

Wundsekret, Auswurf usw. zu finden sind. Der Erfolg der Kultur hängt aber auch weitestgehend von der Stelle und Art der Entnahme des Materials ab. Auch die Ergebnisse der Kutanproben und der serologischen Reaktionen sind nicht immer beweiskräftig.

In Anbetracht dieser Sachlage wäre der Nachweis des Erregers im Material aus menschlicher Aktinomykose mit einem einfachen und erfolgversprechenden Verfahren für die mykologische Diagnostik von großer praktischer Bedeutung. An Stelle der bisher üblichen umständlichen und viel Ausrüstung beanspruchenden anaeroben Methoden habe ich als Ergebnis vielfach wiederholter Versuchsreihen folgende Methode mit einem synthetischen semisoliden Nährboden zur Kultur der Aktinomyzeten ausgearbeitet.

Die aus aktinomykotischen Fisteln spontan abgegangenen oder durch Punktion gewonnenen, eventuell durch Excision aus dem Krankheitsherd selbst erhaltenen Drusen (in Ermangelung solcher das eitrige Sekret) wird unter sterilen Kautelen auf folgenden halbflüssigen Nährboden verimpft:

Glycerin	8,00 ml
Amylum solubile	1,25 g
Glucose	1,20 g
Asparagin	0,06 g
K_2HPO_4	0,25 g
$NaNO_3$	0,05 g
$CaCl_2$	0,04 g
NaCl	0,02 g
$FeCl_2$	0,01 g
Agar	1,80 g
Aqu. dest.	1000 ml

Eine pH-Korrektur ist nicht erforderlich; der Wert liegt meistens um 7,2. Der Nährboden wird bei 1,5 atm. Druck über 20 Min. autoklaviert; hernach kann er in normale und überbreite Eprouvetten abgefüllt im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Die Beimpfung erfolgt mit der Platinöse durch Hineinstechen in das semisolide Medium und einigen seitlichen Bewegungen, evtl. durch eine Kapillarpipette. Es ist darauf zu achten, daß keine Luftblase in den Nährboden gelangt. Nach Beimpfung wird der Nährboden mit 2—3 ml sterilem Oleum paraffini bedeckt, wodurch die anaeroben Kulturbedingungen doppelt gesichert werden. Die zur Begleitflora gehörenden gasbildenden Mikroorganismen können mitunter die anaeroben Bedingungen stören. Aus diesem Grunde ist es empfehlenswert, bei jeder Beimpfung ein Röhrchen über 24—48 Stunden ohne Paraffinbedeckung zu bebrüten; etwa entstehende Gasblasen entweichen während dieser Zeit leicht aus dem halbflüssigen Medium; hernach wird der Nährboden dann mit Paraffinöl überschichtet. Die beimpften Röhrchen werden über 6—8 Wochen am Thermostaten bei 37 °C gehalten.

In dem durchsichtigen halbflüssigen Medium kann das Wachstum der Aktinomyzeten gut beobachtet werden, mitunter bereits von der 3. Woche an. Nebst der radiären Anordnung konnten bisher verschiedene morphologische Kulturformen beobachtet werden (Abb. 1, 2, 3 und 4). Die hier gezüchteten Stämme konnten nach Absägen des Bodens der Eprouvette oder nach vorsichtigem Abgießen des Paraffinöls mit einer Platinöse herausgenommen und in der zweiten Generation auch unter aeroben Bedingungen auf Sabouraud'schem Glukose-

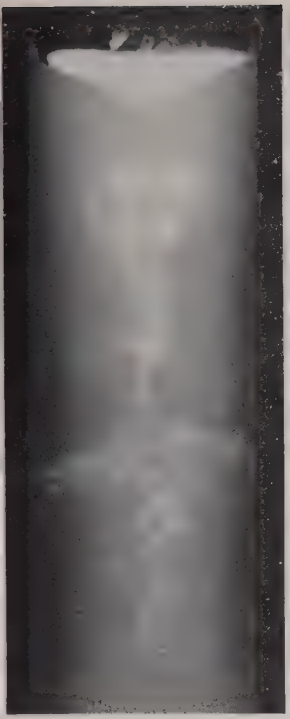


Abb. 1

Abb. 2

Abb. 3

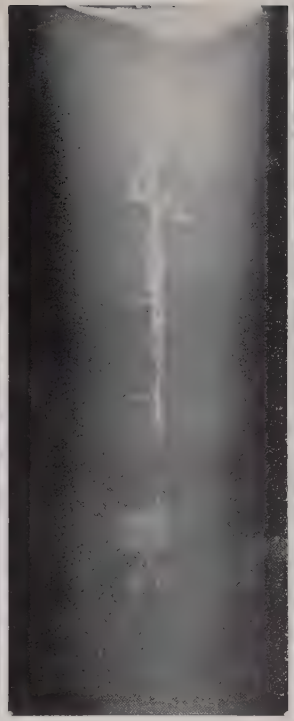


Abb. 4

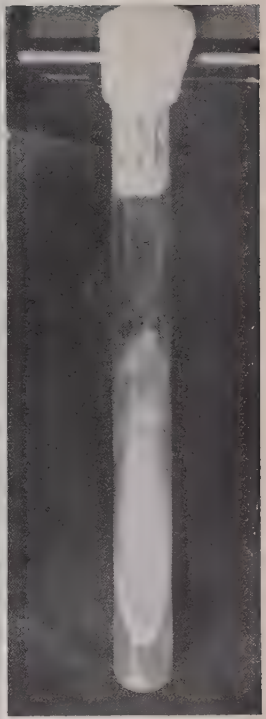


Abb. 5

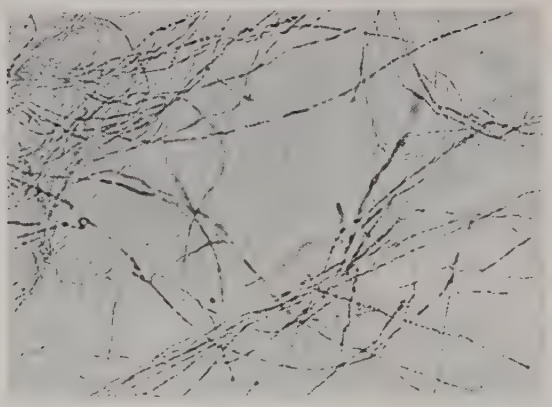


Abb. 6

Abb. 7

oder Maltoseagar weiter kultiviert werden (Abb. 5). Diese Weiterzüchtung ermöglicht es, serologische Proben, Kutanreaktionen und therapeutische Versuche mit dem Eigenstamm des Kranken vorzunehmen.

Ein Mikrophotogramm der im semisoliden Medium kultivierten Aktinomyzeten ist in Abb. 6 zu sehen. In Abb. 7 zeigen wir das Mikrophotogramm der unter aeroben Bedingungen auf Sabouraud-Agar wachsenden zweiten Generation (Vergrößerung beider Bilder 1 : 400).

Der beschriebene Nährboden und das einfache Kulturverfahren erleichtern die Diagnose der Aktinomykose sowie die Erforschung endogener Infektionsquellen. Arbeiten hierüber sind bei uns bereits im Gange.

Literatur

Bergey, D. H.: Manual of Determinative Bacteriology 743 (1957). — Emmons, C. W.: Publ. Health Rep. (Washington) 53. 1967 (1938). — Fejér, E., Oláh, D., Szathmáry, S., Szodoray, L., Uri, J.: Orvosi Mykologia, 1957. — Israel, O.: Virch. Arch. XCV (1884), CV (1886) 31. 725 (1929). — Naerlund, C.: Ref. Zbl. f. Haut- u. Geschlkrkh. 39. 203 (1932). — Schuermann, H.: Dtsch. Med. Wschr. II. 1477—1478 (1938). — Wolf, M., J. Israel: Kolle-Wassermann. Hdb. Path. Micr. 1913.

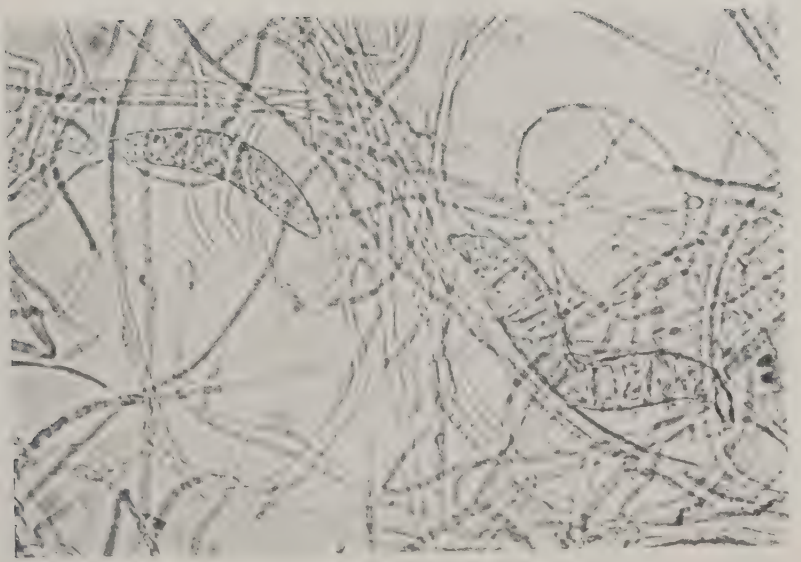
Tagungsberichte

Zu Ehren der drei verstorbenen New Yorker Pioniere der medizinischen Mykologie, Dr. Rhoda Benham, Dr. Dodge und Dr. Hopkins, veranstaltete die New York Academy of Medicine am 9. und 10. März 1961 ein Symposium über „Fungi and Fungus Diseases", zu dem Gastsprecher aus England, Frankreich, Mexiko und Deutschland eingeladen worden waren. Die wachsende Bedeutung der Pilze als Krankheitserreger und als Werkzeuge für biologische Studien wurde von N. F. Conant, Durham, gewürdigt. Dem folgte ein Referat von J. C. Gentles, Glasgow, über keratinophile Pilze und ihre Rolle als Krankheitserreger; danach stellt Microsporum gypseum möglicherweise das imperfekte Stadium zweier verschiedener Pilzarten dar. Die Mehrzahl der Dermatophyten ist eher parasitär als saprophytär. Theodore, New York, berichtete dann über soprophytische Pilze als Erreger von Augeninfektionen. In einem hervorragend illustrierten Referat diskutierte Segretain, Paris, einige neue oder wenig bekannte mykotische Krankheitserreger. Die Myztomerreger wurden von Lavalle, Mexico City, behandelt, während sich Ajello, Atlanta Ga., mit der Epidemiologie der Pilzinfektionen befaßte. Der Nachmittag des ersten Verhandlungstages stand unter dem Thema „Stoffwechsel und Genetik der Pilze" mit Referaten von Pine über die bestimmenden Ernährungsfaktoren für die Pilzmorphologie, Lampen, New Brunswick (Intermediärstoffwechsel von Pilzen, nachgewiesen durch das Verhalten gegen Arzneimittel), Grigg, New York (Mutationen bei Pilzen) und Olive, New York, der die Mechanismen der genetischen Rekombination bei Pilzen ausführlich erläuterte. Die 3. Sitzung unter Vorsitz von Ch. C. Campbell, Washington, D. C., stand unter dem Leitgedanken „Der Pilz als Erreger". Nach einem Vortrag von McNall, Los Angeles, über die Zellwandbestandteile pathogener Pilze sprach R. Brown, Albany, N.Y., über die Stoffwechselprodukte des Streptomyces sp. Nr. 5268. Seeliger, Bonn, behandelte dann die Serologie der Pilze und tiefen Mykosen, gefolgt von E. E. Evans, Birmingham, Alabama, der über seine grundlegenden Arbeiten über die Reaktivität der Cryptococcus-Kapsel berichtete. Ihrem Wesen nach lassen sich mindestens 4 verschiedene Arten von Kapselreaktionen unterscheiden, wovon nur eine als Antigen-Antikörper-Reaktion anzusehen ist. Die Differenzierung und Klassifizierung von Hefen mittels der fluoreszierenden Antikörpertechnik nach Coons war das Thema eines interessanten Vortrages von Gordon, Albany, N.Y., dem sich ein ungewöhnlich reich illustriertes Referat von Binford, Washington, D. C., über die von Pilzen hervorgerufenen Gewebsreaktionen anschloß. Huppert, San Fernando, Ca., leitete die 4. Sitzung (Kontrolle und Therapie der Mykosen) mit einem Bericht über Immunisierungsversuche gegen oberflächliche Pilzinfektionen ein. Danach sprach Levine, Oakland, Ca., über das unterschiedliche Immunisierungsvermögen von Pilzvakzinen bei experimentellen Mykosen, insbesondere Coccidioidomykose. Durch neue Züchtungsverfahren ist es gelungen, fast reine Endosporenimpfstoffe aus C. immitis herzustellen, deren Schutzkraft allen anderen Vakzinen überlegen zu sein scheint. Von besonderem Interesse war ein weiteres Referat von M. Silva und H. Buckley, New York, die über die hemmende Wirkung von Eiweiß auf menschenpathogene Pilze berichteten. Die Verhandlungen schlossen mit einem Round-Table-Gespräch über therapeutische Probleme unter Leitung von Littman, New York, Furcolow, Kansas City, hob

hervor, daß derzeit Amphotericin B das einzige Mittel zur Behandlung der progressiven disseminierten Histoplasmose darstellt; zu ähnlichen Folgerungen gelangte Littman hinsichtlich der Cryptokokkose, die außerdem eine Thiamin-arme Diät erfordert. Nach Winn, Springfield, Cal., ist die Therapie der disseminierten Coccidioidomykose noch ungelöst, obwohl sich auch hier die Verabfolgung von Amphotericin B gelegentlich bewährt hat. Obwohl Dauerheilungen bisher ausstehen, zeigten einzelne Patienten deutliche Besserungen und Titerrückgänge. C. T. Nelson, New York, diskutierte die Wirkung des Griseofulvins, in dem er ein nützliches Therapeutikum bei Mikrosporie und anderen, meist oberflächlichen Infektionen der Epidermis und der Haare sieht. Bei den chronischen Infektionen, insbesondere bei den Onychomykosen haben sich jedoch die Erwartungen nicht erfüllt. Emmons, Bethesda, Md., der neuerdings die durch Mucor- und Rhizopus-Arten verursachten Infektionen zusammenfassend als Phykomykosen bezeichnet, gab einen vorläufigen Bericht über ein neues, leider noch in zu geringen Mengen erhältliches Antimykoticum (x - 5079 C), das im Mäuseversuch gegen Histoplasmose, Blastomykose, Aspergillose und Sporotrichose wirksam ist, gegen Coccidioidomykose und Candidamykose aber keinen Effekt erkennen läßt. Die Vorträge, die in einem Sonderheft der Ann. of the N.Y. Academy of Medicine publiziert werden, waren fast stets von lebhaften Diskussionen der mehr als 100 Teilnehmer gefolgt und boten in ihrer Gesamtheit ein eindrucksvolles Bild von der Dynamik der etwa 30 Jahre alten amerikanischen Mykologie. SEELIGER, Bonn

Der 3. Verhandlungstag der 28. Tagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (2.—5. 5. 1961) in Düsseldorf war den naturwissenschaftlichen Themen, insbesondere der Mykologie vorbehalten. Seeliger, Bonn, führte in seinem Übersichtsreferat „Serodiagnostik der Pilze und mykotischen Infektionen" aus, daß sich die Serodiagnostik als ebenso wertvolles zusätzliches Hilfsmittel bei der Klärung phylogenetischer Beziehungen zwischen den Pilzen erwiesen habe wie bei der Erkennung mykotischer Infektionen. Es besteht auch die Möglichkeit, serologische Verfahren in die Routinediagnostik einzubauen. Hierdurch sollen bewährte Verfahren nicht verdrängt, sondern sinnvoll ergänzt werden. Windisch, Berlin, behandelte in einem weiteren Hauptreferat „Zum gegenwärtigen Stand der Systematik und Ökologie der Hefen" die methodischen Fortschritte sowie die neueren Ergebnisse vegetationskundlicher und ökologischer Untersuchungen über die Hefeflora des Menschen und einiger Warmblüter. Danach sind qualitative und quantitative Vollanalysen geeignet, die Zusammensetzung von Standortgemeinschaften nach der Artenhäufigkeit festzustellen. Zusätzliche Analysen der Mengenentwicklung der Standortpartner gestatten, die Reaktionen der Hefe-Partnerarten auf Umweltsänderungen messend zu verfolgen. Gast und Wirt bilden ein dynamisches System.

Anschließend berichtete Mehnert, München, über Nachweis und Differenzierung pathogener Hefen im Untersuchungsgut von Mensch und Tier mittels eines von ihr entwickelten Schnellverfahrens, das im wesentlichen auf der selektiven Wirkung bestimmter Säuren auf das Wachstum von Hefepilzen im Kartoffelwasser bei 37 °C beruht. Vorträge von Emeis (über aneuploide Hefen) und Laskowski (Der „aα-Effekt", eine Korrelation zwischen Paarungstypenkonstitution und Strahlenresistenz bei Hefen), beide Berlin, befaßten sich mit genetischen Problemen, während Müller, Jena, einen gelungenen Film „Vitaluntersuchungen zur Ascosporenbildung von Schizosaccharomyces" bot. Zum Thema „Cryptococcus neoformans, var. uniguttulatus als Erreger einer endogenen Mykose" referierten Kröger, Oldenburg, und Mitarbeiter über einen sowohl vom Klinischen wie Mykologischen her interessanten Fall dieser in Deutschland noch selten diagnostizierten Krankheit. Den Abschluß bildeten die Ausführungen Sprecher's, Karlsruhe, „Stoffausscheidung bei Pilzen". Die Vorträge werden in extenso im Verhandlungsbericht (Zbl. Bakt. Abt. I Orig.) veröffentlicht. SEELIGER, Bonn



Mykologische Bildkartei

Aus der Univ.-Hautklinik Hamburg-Eppendorf
(Direktor: Prof. Dr. Dr. J. K i m m i g)

Von H. RIETH

Teil	I
Serie	H
Unterserie	p
Bild	4

Piedraia Hortai *(Brumpt) da Fonseca et Leão 1928*

Bild 4: Ascus mit 8 reifen bananenförmigen Ascosporen

Der Ascus (= sackförmiger Fruchtbehälter mit sexuellen Sporen) wurde aus einem mit steinharten schwarzen Piedra nigra-Knötchen dicht besetzten Haar*) herauspräpariert.
Die Form des Ascus ist — je nach Alter — rundlich bis oval. Die Größe beträgt im reifen Zustand etwa 30 mal 50μ, die Größe der Ascosporen etwa 6 mal 45μ. Die Ascuswand ist durchsichtig.

Nach neueren Untersuchungen wird nicht nur der Mensch von Piedraia Hortai befallen, sondern auch Menschenaffen; dies ergab eine Untersuchung von 438 Fellen aus Museen. Befallen waren die Felle aus Asien (60 %), Afrika (28,7 %) und Amerika (76,1 % — W. Kaplan: Trop. geogr. Med. *11*, 115—126 (1959). —

*) Das Haar stammte aus Brasilien und wurde von Herrn Prof. Ruge, Kiel, freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Mykologische Bildkartei

Aus der Univ.-Hautklinik Hamburg-Eppendorf
(Direktor: Prof. Dr. Dr. J. K i m m i g)

Von H. RIETH

Teil	I
Serie	M
Unterserie	a
Bild	6

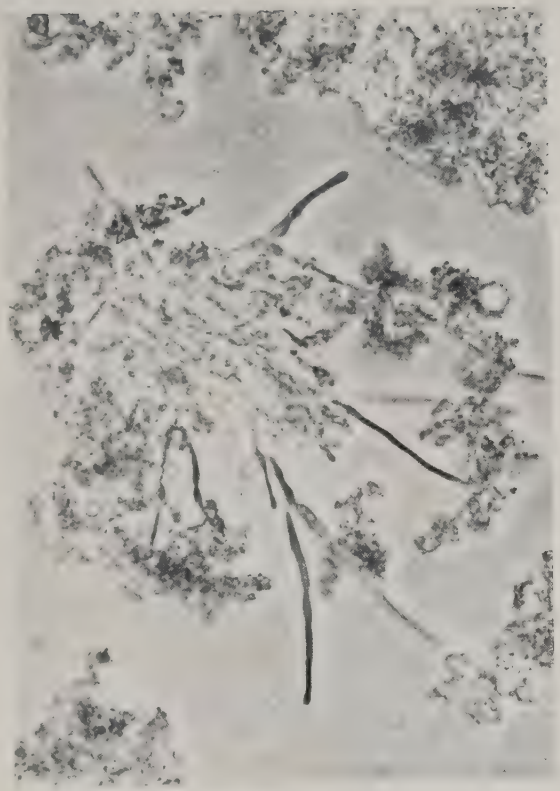
Mikrosporum Audouinii *Gruby 1843*

Bild 6: Mikrokultur mit 2 typischen Makrokonidien

Verwendet wurde die Agarblockmethode von K a d e n als Objektträgerkultur, als Nährboden diente K i m m i g - Agar.

Die unregelmäßig gestalteten, septierten Makrokonidien werden nur sehr selten gebildet; sie messen etwa 5—10 mal 30—50μ, doch kommen Abweichungen vor.

Die Bildung der Makrokonidien (und ebenso der Mikrokonidien) erfolgt nur in der saprophytären Phase; d. h. wenn der Pilz sich von totem organischen Material ernährt; der Nachweis von Konidien spricht also immer für saprophytäres Wachstum. Eine Ausnahme bildet jedoch der mikroskopische Nachweis von Makrokonidien in Hautschuppen nach experimenteller Inokulation. — M. Thianprasit: 1. Wiss. Sitzg. Dtschspr. Myk. Ges. ISHAM, 15. 1. 61, Essen. —



Mykologische Bildkartei

Aus der Univ.-Hautklinik Hamburg-Eppendorf
(Direktor: Prof. Dr. Dr. J. Kimmig)

Von H. RIETH

Teil	II
Serie	C
Unterserie	a
Bild	26

Candida albicans *(Robin) Berkhout 1923*

Bild 26: Kopfhaar eines an generalisierter Soormykose erkrankten Kindes auf Reisagar. Phasenkontrastaufnahme nach 48 Std.

Dicht am Haar entlang haben sich zahlreiche, 2—4μ große Blastosporen entwickelt; das baumartig verzweigte Pseudomycel entsteht durch Sprossung bei stark vermehrtem Längenwachstum der Zellen; endständig sind einzelne, im Phasenkontrast hell aufleuchtende Chlamydosporen zu sehen.

Auch Barthaare können von Candida albicans befallen werden. — C. Schirren u. H. Rieth: Arch. klin. exp. Dermat. *202,* 577—589 (1956). — Zur Reisagar-Technik: Das Auflegen eines Deckglases auf die Impfstelle fördert die Pseudomycelentwicklung und ermöglicht die kontinuierliche mikroskopische Beobachtung.

Mykologische Bildkartei

Aus der Univ.-Hautklinik Hamburg-Eppendorf
(Direktor: Prof. Dr. Dr. J. Kimmig)

Von H. RIETH

Teil	II
Serie	C
Unterserie	a
Bild	31

Candida albicans *(Robin) Berkhout 1923*

Bild 31: Pseudomycel in der Netzhaut eines Kaninchens, 17 Std. nach intravenöser Injektion von Blastosporen (Nativpräparat).

Die Netzhaut des Kaninchens ist eine Prädilektionsstelle für das Angehen einer Candida albicans-Infektion, ähnlich wie Niere und Gehirn. Die Zahl der entstehenden Herde ist von der Infektionsdosis abhängig, wird aber auch durch andere Faktoren beeinflußt, z. B. durch solche, die die Durchblutung verändern.

Die Herde können — bei geeigneter Impfmenge — bereits nach wenigen Tagen mit dem Augenspiegel fortlaufend beobachtet werden. Große Abszesse brechen mitunter in den Glaskörper durch, kleinere können unter Narbenbildung abheilen. — A. Dugge: Inaug.-Dissertation, Hamburg 1961. —

Nachtrag des Bildmaterials der Arbeit

Aspects de la Maladie Dermatophytique

Von A. SCHOUSBOE

aus Band 3, Heft 4 dieser Zeitschrift

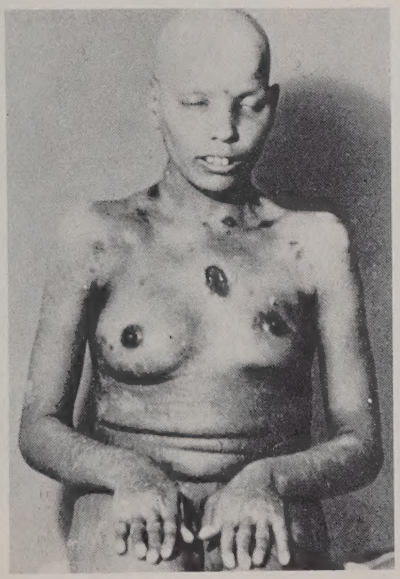


Abb. 1

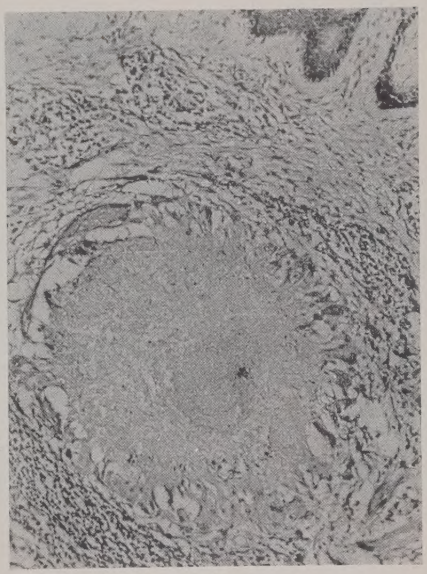


Abb. 2

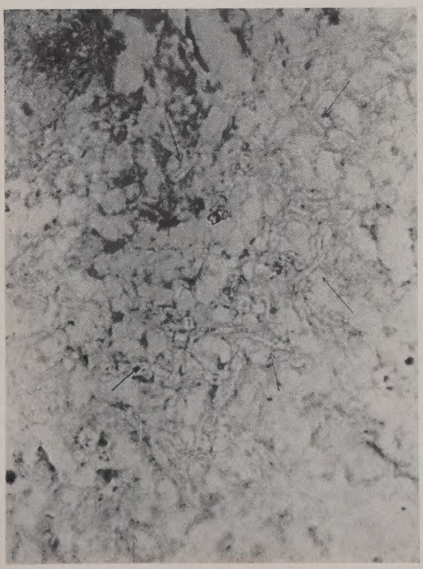


Abb. 3

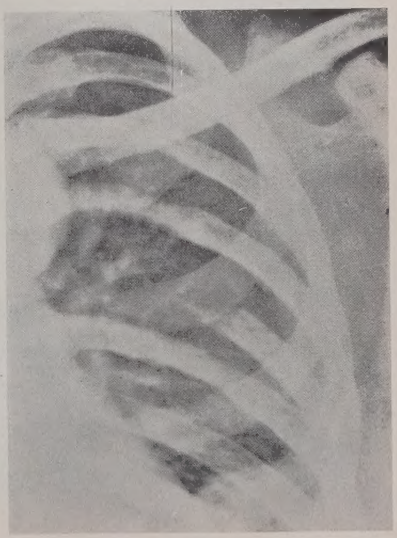


Abb. 4

Abb. 5

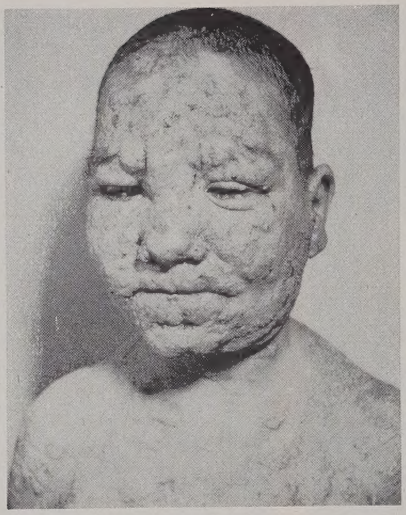


Abb. 6

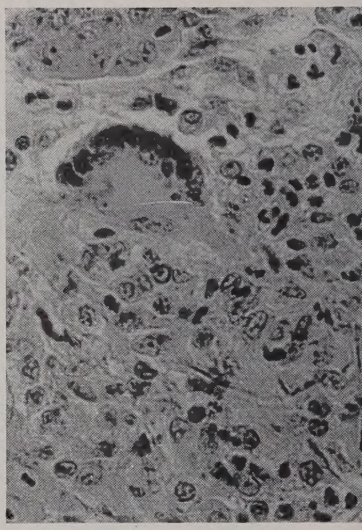


Abb. 7

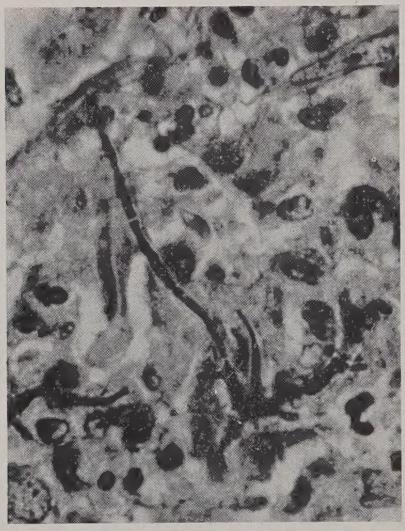


Abb. 8

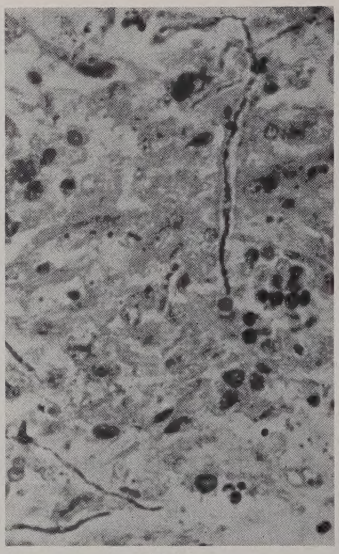


Abb. 9

Benedek, T.

(Mycology Section, Dept. of Dermatology, Stritch School of Medicine, Loyola University, Chicago, Ill.)
Mycopathologia 13, 287—301 (1960)

Critical survey of the present stand of the production of perfect stage of organs of fructification in dermatophytes.

(Kritische Übersicht über den gegenwärtigen Stand der Produktion perfekter Fruktifikationsorgane bei Dermatophyten.)
In der einschlägigen Literatur wird häufig nicht klar auseinandergehalten, daß in der Frage der Bildung von Hauptfruchtformen bei Dermatophyten unterschieden werden muß zwischen dem Verhalten der Primärkultur und dem Versuch, in den imperfekten bzw. imperfekt gewordenen Laborstämmen wieder die Hauptfruchtform zur Entwicklung zu bringen. Verf. schildert dann die Arbeiten von Matruchot & Dassonville (1899), Chalmers & Marshall (1914), Wilenczyk (1926), Nannizzi (1926), Biltris (1929), Langeron & Milochevitch (1930) sowie Ciferi & Redaelli (1947 bis 1949) und folgert, daß der einzige erfolgreiche Versuch zur Lösung der Frage von Nannizzi gemacht wurde. Die Annahme, daß einzelne Dermatophyten-Arten zu den Gymnoascaceae gehören, wird für berechtigt angesehen (z. B. T. mentagrophytes, T. equinum). Das gleiche gilt für die Formgattung Achorion (A. gypseum), in der ebenfalls Pykniden gefunden wurden.

Seeliger, Bonn

Levine, H. B., Cobb, J. M. & Smith, C. E.

(Naval Biological Laboratory, University of California, Berkeley, Cal.)
Transact. N. Y. Acad. Sc. 22, 436—449 (1960)

Immunity to Coccidioidomycosis induced in mice by purified Spherule, Arthrospore, and Mycelial Vaccines.

(Immunität gegen Coccidioidomykose bei Mäusen nach Behandlung mit Vakzinen aus gereinigten Sphärulen, Arthrosporen und Myzelien.)
Es gelang, in vitro eine gereinigte Sphärulen-Endosporen Phase von Coccidioides immitis herzustellen. Dieses Antigen wurde mit Formalin abgetötet; anschließend wurde die immunisierende Fähigkeit dieses Antigens mit der von gereinigten Arthrosporen- und Myzelvakzinen an den weißen Mäusen verglichen. Bis 105 Tage nach einer letalen Infektionsdosis mit C. immitis enthielt das Gewebe der vakzinierten, überlebenden Tiere zwar noch lebende Pilze, aber die Infektion schien bei den mit Sphärulen-Endosporen-Vakzine immunisierten Tieren am wenigsten ausgedehnt. Der so gewonnene Impfschutz war bei der Arthrosporen- und Myzelvakzine meßbar niedriger. Seeliger, Bonn

Larsh, H. W.

(Department of Plant Sciences, University of Oklahoma, Norman, Okla. and Kansas City Field Station, Kansas City, Kans.)
Ann. N. Y. Acad. Sc. 89, 78—90 (1960)

Natural and Experimental Epidemiology of Histoplasmosis.

(Epidemiologie der Histoplasmose unter natürlichen Verhältnissen und im Experiment.)

Nach einem Überblick über epidemiologische Besonderheiten der Histoplasmose unter besonderer Betonung des saprophytären Daseins des Erregers im Boden und seiner aerogenen Übertragung wird über Meerschweinchenversuche mit Histoplasma-Aerosolen berichtet. Selbst relativ kleine Mengen lebender oder formolisierter Myzelpartikel (Myzel-Conidien-Homogenisate) bewirkten nach Inhalation eine Umstimmung, angezeigt durch das Positivwerden der Intracutanprobe mit Histoplasmin. Infektionsversuche mit Myzelpartikel gingen unregelmäßig an, wahrscheinlich infolge unterschiedlicher Lebensfähigkeit der Pilzpartikel. Ein bis zwei Wochen alte Kulturen scheinen für diesen Zweck am ge-

eignetsten zu sein. Hefephasezellen eignen sich bei entsprechend variierter Methodik im Henderson-Apparat ebenfalls für Aerosol-Versuche —. Während früher positive Histoplasmin-Reaktionen vorwiegend in ländlichen Gegenden festgestellt wurden, zeigen neuere Beobachtungen auch endemische Herde in Stadtgebieten.

Seeliger, Bonn

Scherr, G. H. & Rippon, J. W.

(Department of Microbiology, The University of Illinois College of Medicine, Chicago)
Mycopathologia 11, 241—249 (1951)

Experimental Histoplasmosis in Cold-Blooded Animals.
(Experimentelle Histoplasmose bei Kaltblütern.)

Die entscheidende Bedeutung der Temperatur für die Umwandlung der Myzelin die Hefephase von H. capsulatum wird an Infektions-Versuchen mit Kaltblütern (Fische, Eidechsen) aufgezeigt. Bei Temperaturen zwischen 25—30 °C zeigte sich in den Läsionen nach Infektion mit der Myzelphase stets die Myzelphase, bei 37 °C die Hefephase. Wurde die Infektion dagegen mit der Hefephase durchgeführt, ließ sich auch bei niederen Temperaturen kein Rückschlag in die Myzelphase erkennen. Die für die Umwandlung von der M- in die H-Phase verantwortlichen intermediären Stoffwechselprodukte dürften deshalb nur bei 37 °C gefunden werden. Entsprechende Untersuchungen sind zur Zeit im Gange.

Seeliger, Bonn

Klaushofer, H.

(Institut für angewandte Mikrobiologie der Hochschule für Bodenkultur, Wien/Österreich.)
Sonderdruck aus Brauwissenschaft 13, 310—317 (1960)

Die Methode der Fluoreszein-markierten Antikörper.
Ein neues Verfahren zum Nachweis „wilder Hefen" in der Gärungsindustrie.

Neben den üblichen morphologischen, kulturellen und biochemischen Verfahren lassen sich auch serologische Methoden zur Trennung der in der Brauerei verwandten Kulturhefen von den wilden Hefen anwenden. Verf. benutzte zur Differenzierung fluorochromierte Antiseren von S. carlsbergensis und S. pastorianus. Serum von S. carlsbergensis reagierte jedoch unbehandelt, wie nach Absättigung mit S. cerevisiae, nicht nur mit dem Eigenantigen sondern auch mit diversen Fremdstämmen, z. B. mit 6 Kulturen von S. cerevisiae var. ellipsoideus, S. willianus, S. bayanus und S. pastorianus. Umgekehrt erfaßte ein abgesättigtes S. pastorianus-Serum auch S. carlsbergensis (16 Stämme), S. cerevisiae var. ellipsoideus (6 Stämme), und S. willianus. Diese durch Antigengemeinschaften bedingten Kreuzreaktionen sind Ursache der Schwierigkeiten, serologische Verfahren bei der Trennung von Kultur- und Wildhefen anzuwenden. Möglicherweise läßt sich das Ziel durch Benutzung speziell absorbierter Seren erreichen.

Seeliger, Bonn

Ende des redaktionellen Teils

Beilagenhinweis:

Der heutigen Ausgabe ist ein Prospekt der Firma Georg Thieme Verlag, Stuttgart, beigefügt. Wir bitten um freundliche Beachtung.

Verlag: Berliner Medizinische Verlagsanstalt Grosse, Berlin-Lichterfelde, Baseler Str. 67, Telefon: 73 50 13. Verantwortlich für die Schriftleitung: Prof. Dr. med. H. Grimmer, Berlin N 65, Augustenburger Platz 1, Telefon: 46 41 91. Verantwortlich für den Anzeigenteil: J. Karuth, Berlin-Lichterfelde, Baseler Str. 67, Telefon: 73 50 13. Druck: Max Schönherr, Berlin N 65, Müllerstr. 10-11